

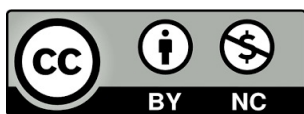
María de los Dolores Alferez Reyes

Ablación por Radiofrecuencia en
Oncología Veterinaria: Análisis de
sus Fundamentos Físicos,
Limitaciones Técnicas y
Aplicaciones Terapéuticas

Director/es

Gómez Ochoa, Pablo
De Blas Giral, Ignacio

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

**ABLACIÓN POR RADIOFRECUENCIA EN
ONCOLOGÍA VETERINARIA: ANÁLISIS DE SUS
FUNDAMENTOS FÍSICOS, LIMITACIONES
TÉCNICAS Y APLICACIONES TERAPÉUTICAS**

Autor

María de los Dolores Alferez Reyes

Director/es

Gómez Ochoa, Pablo
De Blas Giral, Ignacio

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

Programa de Doctorado en Medicina y Sanidad Animal

2025

Tesis Doctoral

Ablación por Radiofrecuencia en Oncología
Veterinaria: Análisis de sus Fundamentos Físicos,
Limitaciones Técnicas y Aplicaciones Terapéuticas

Autor

María de los Dolores Alférez Reyes

Director/es

Pablo Gómez Ochoa
Ignacio de Blas Giral

Facultad de Veterinaria
2025

Universidad de Zaragoza

Facultad de Veterinaria

Departamento de Patología Animal



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza

**Ablación por radiofrecuencia en
oncología veterinaria: análisis
de sus fundamentos físicos,
limitaciones técnicas y
aplicaciones terapéuticas**

Memoria presentada por **María de los Dolores Alférez Reyes**

Para optar al grado de Doctor

Enero 2025



Universidad
Zaragoza

Dr. PABLO GÓMEZ OCHOA, Profesor Titular del Área de Medicina y Cirugía Animal del Departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, y Dr. IGNACIO DE BLAS GIRAL, Profesor Titular del Área de Sanidad Animal del Departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, y, como Directores,

CERTIFICAN:

Que D^a. MARÍA DE LOS DOLORES ALFÉREZ REYES ha realizado bajo nuestra dirección los trabajos correspondientes a su Tesis Doctoral titulada “*Ablación por radiofrecuencia en oncología veterinaria: análisis crítico de sus fundamentos físicos, limitaciones técnicas y aplicaciones terapéuticas*” que se ajusta al Proyecto de Tesis presentado y cumple las condiciones exigidas para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Zaragoza, por lo que autorizamos su presentación como compendio de publicaciones para que pueda ser juzgada por el Tribunal correspondiente, y que incluye las siguientes:

- 1) Alférez MD, Corda A, de Blas I, Gago L, Fernandes T, Rodríguez-Piza I, Balañá B, Pentcheva P, Caruncho J, Barbero-Fernández A, Llinás J, Rivas D, Escudero A, Gómez-Ochoa P. Computed Tomography-Guided Radiofrequency Ablation of Nasal Carcinomas in Dogs. *Animals*, 2024;14(24):3682. d
- 2) Alférez MD, Corda A, de Blas I, Gago L, Fernandes T, Rodríguez-Piza I, Balañá B, Corda F, Gómez Ochoa P. Percutaneous Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation as a Therapeutic Approach for the Management of Insulinomas and Associated Metastases in Dogs. *Animals*, 2024;14(22):3301.
- 3) Gómez Ochoa P, Alférez MD, de Blas I, Fernandes T, Sánchez Salguero X, Balañá B, Meléndez Lazo A, Barbero Fernandez A, Caivano D, Corda F, Corda A. Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation of Chemodectomas in Five Dogs. *Animals*, 2021;11(10):2790.
- 4) Gómez Ochoa P, Barbero Fernández A, Alférez Reyes MD, Zoco Herrero G, Sanmartín Arroita U, Melendez Lazo A. Ablación por radiofrecuencia percutánea en un feocromocitoma adrenal con invasión de la vena cava caudal. *Axon Vet - Novedades en Veterinaria*. 2022:1-5.

Y para que conste, firmamos este certificado, en Zaragoza, a 17 de febrero de 2025

Dr. Pablo Gómez Ochoa

Dr. Ignacio de Blas Giral

Agradecimientos

A mis directores de tesis, Pablo Gómez Ochoa y Nacho de Blas Giral, me cuesta encontrar palabras que realmente puedan expresar toda mi gratitud. Su apoyo ha sido mucho más que una guía académica; ha sido una muestra constante de paciencia, sabiduría y dedicación. Gracias por confiar en mí, por brindarme su tiempo y su experiencia y por orientarme con una generosidad que me ha permitido crecer no solo como profesional, sino también como persona. Su acompañamiento ha sido esencial en cada paso de este camino, y por ello, siempre les estaré profundamente agradecida.

A Pablo. Tu amor, tu paciencia y tu apoyo han sido mi fuerza en cada momento. Has estado a mi lado, no solo con comprensión, sino con una entrega total, dándome tranquilidad y confianza cuando más lo necesitaba. Este logro es también tuyo, porque sin ti no habría sido posible llegar hasta aquí.

A Jacobo y Alejo, gracias por su amor y por ser una fuente constante de alegría y motivación. Su presencia en mi vida es una bendición.

A mis padres, Manuel y Aurora, mi hermanos, Manu y Aurora, a Lourdes, a Irma, a Miguel y a Irmita, Maricuela y Lolina. Gracias por un amor que trasciende cualquier distancia.

A Javier Miana y Mari Ángeles Latorre, por esa cena que supuso el punto de partida de este proyecto. Por las palabras de ánimo y los encuentros dentro del compás.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a los compañeros clínicos que confiaron en nuestro trabajo, refiriéndonos sus casos y permitiendo que sus pacientes formaran parte de esta investigación. Asimismo, extiendo mi gratitud a los responsables de las mascotas tratadas en esta tesis, quienes depositaron su confianza en nuestro equipo para el cuidado y tratamiento de sus animales. Su apoyo y colaboración fueron fundamentales para la realización de este proyecto.

Y, sobre todo, quiero dedicar esta tesis a Paco Gómez Casal. Aunque ya no esté físicamente entre nosotros, está presente en cada momento de nuestra vida. Siempre recordaré el amor con el que creíste en este proyecto. Gracias por ser el pilar que impulsó esta aventura. Te llevo en el corazón, y esta tesis es también un homenaje a tu memoria.

Índice

Índice	I
Resumen	III
Summary	IV
1. Justificación como compendio de publicaciones	1
2. Introducción general	2
1.1. Ablación por radiofrecuencia	3
1.1.1. Perspectiva histórica	3
1.1.2. Principios físicos	4
1.1.2.1. Fundamentos electromagnéticos	5
1.1.2.2. Interacción energía-tejido	6
1.1.2.3. Impedancia y conductividad tisular	8
1.1.2.4. Muerte celular térmica	9
1.1.3. Aspectos técnicos	10
1.1.3.1. Tipos de generadores y sus características	10
1.1.3.2. Diseño y configuración de electrodos	12
1.1.3.3. Sistemas de refrigeración y control	13
1.1.3.4. Placas de dispersión	15
1.1.3.5. Protocolos de aplicación y monitorización	17
1.1.3.6. Consideraciones sobre imagen guiada	18
1.1.4. Limitaciones y efectos adversos	18
1.1.4.1. Limitaciones relacionadas con el tamaño tumoral y geometría	19
1.1.4.2. Limitaciones por localización anatómica	20
1.1.4.3. Limitaciones relacionadas con la conductividad tisular	22
1.1.4.4. Efecto sumidero vascular	23
1.1.4.5. Limitaciones en la monitorización en tiempo real	24
1.1.4.6. Efectos adversos y complicaciones	26
1.2. Otras terapias ablativas locales	27
1.2.1. Terapias ablativas térmicas	28
1.2.1.1. Microondas	28
1.2.1.2. Crioablación	28
1.2.1.3. Ultrasonidos focalizados de alta intensidad (HIFU)	30
1.2.1.4. Electroporación irreversible de alta frecuencia (HiFIRE)	30
1.2.2. Terapias ablativas eléctricas	31
1.2.2.1. Electroporación irreversible (IRE)	31
1.2.2.2. Electroquimioterapia	32
1.2.3. Terapias ablativas químicas	33
1.2.3.1. Esclerosis con etanol	33
1.2.4. Otras terapias ablativas emergentes	33
1.3. Fundamentos inmunológicos	34
1.3.1. Procesos de necrosis y muerte celular	35
1.3.2. Respuesta inflamatoria y fagocitosis	37
1.3.3. Inmunomodulación y respuesta adaptativa	38
1.3.4. Implicaciones terapéuticas	40

3. Objetivos	43
3.1. Objetivos principales	43
3.2. Objetivos secundarios	43
4. Resultados	45
4.1. Ablación por radiofrecuencia en tumores nasales	45
4.2. Ablación por radiofrecuencia percutánea ecoguiada en insulinomas y sus metástasis	61
4.3. Ablación por radiofrecuencia percutánea en tumores de quimiodectomas aórticos	79
4.4. Ablación por radiofrecuencia percutánea en un feocromocitoma adrenal con invasión de la vena cava caudal	93
5. Discusión general	101
5.1. Eficacia terapéutica de la RFA	101
5.2. Perfil de seguridad	102
5.3. Aplicabilidad clínica	103
5.4. Limitaciones y desafíos	103
5.5. Implicaciones clínicas y futuras líneas de investigación	104
6. Conclusiones	105
7. Bibliografía	107
8. Apéndices	139
8.1. Factor de impacto y áreas temáticas	139
8.2. Contribución de la doctoranda	140

Resumen

La ablación por radiofrecuencia (RFA) se posiciona como una técnica ablativa mínimamente invasiva con gran potencial en la oncología veterinaria. Esta tesis doctoral analiza su eficacia, seguridad y aplicabilidad clínica, enfocándose en neoplasias específicas, tales como insulinomas, quimiodectomas, carcinomas nasales y feocromocitomas. A través de cuatro artículos científicos, se demuestra su capacidad para reducir significativamente el tamaño tumoral y mejorar parámetros clínicos relevantes.

El procedimiento mostró un perfil de seguridad favorable. Las complicaciones observadas fueron leves y transitorias, y pudieron ser manejadas con ajustes técnicos en tiempo real. El uso de imagen guiada, como ecografía y tomografía computarizada, garantizó una planificación precisa, minimizando riesgos en localizaciones críticas, como estructuras vasculares en feocromocitomas o proximidad al cráneo en carcinomas nasales.

Desde el punto de vista técnico, se destaca la versatilidad de la RFA en diferentes configuraciones tumorales y su adaptabilidad a contextos clínicos. La utilización de electrodos expandibles, junto con la monitorización multiparamétrica, permitió optimizar los volúmenes ablativos y garantizar la seguridad. Además, la integración de la RFA en protocolos multimodales con quimioterapia o cirugía asistida incrementa su potencial terapéutico.

Sin embargo, se identificaron desafíos técnicos, como el efecto sumidero térmico en tumores vascularizados y limitaciones en la monitorización térmica en tiempo real. Estas barreras resaltan la necesidad de avances tecnológicos, como sistemas de control adaptativo o imagen híbrida, para mejorar la eficacia y predictibilidad del procedimiento.

En conclusión, esta investigación valida científicamente la RFA como una herramienta eficaz, segura y aplicable en medicina veterinaria oncológica. Propone líneas futuras de investigación para optimizar su implementación, incluyendo el desarrollo de tecnologías avanzadas, evaluación de nuevas indicaciones tumorales y su combinación con inmunoterapias emergentes. La RFA puede consolidarse como una opción terapéutica con alto impacto en la calidad de vida de los pacientes, especialmente en aquellos con contraindicación para tratamientos quirúrgicos tradicionales.

Summary

Radiofrequency ablation (RFA) stands out as a minimally invasive ablative technique with significant potential in veterinary oncology. This doctoral thesis examines its efficacy, safety, and clinical applicability, focusing on specific neoplasms such as insulinomas, chemodectomas, nasal carcinomas, and pheochromocytomas. Across four scientific articles, this research demonstrates RFA's ability to significantly reduce tumor size and improve relevant clinical parameters.

The procedure exhibited a favorable safety profile. Observed complications were mild and transient, and can be effectively managed through real-time technical adjustments. The use of image guidance, such as ultrasound and computed tomography, ensured precise planning, minimizing risks in critical locations, such as vascular structures in pheochromocytomas or proximity to the skull in nasal carcinomas.

From a technical perspective, RFA's versatility across various tumor configurations and its adaptability to clinical settings are highlighted. The use of expandable electrodes, coupled with multiparametric monitoring, optimized ablative volumes while ensuring safety. Furthermore, the integration of RFA into multimodal protocols, including chemotherapy or assisted surgery, enhances its therapeutic potential.

However, certain technical challenges were identified, such as the heat-sink effect in vascularized tumors and limitations in real-time thermal monitoring. These barriers underscore the need for technological advancements, such as adaptive control systems or hybrid imaging, to improve the procedure's efficacy and predictability.

In conclusion, this research scientifically validates RFA as an effective, safe, and applicable tool in veterinary oncology. It proposes future research directions to optimize its implementation, including the development of advanced technologies, evaluation of new tumor indications, and its combination with emerging immunotherapies. RFA has the potential to become a therapeutic option with a significant impact on patient quality of life, particularly for those with contraindications for traditional surgical treatments.

1. Justificación como compendio de publicaciones

La presente Tesis Doctoral se presenta como un compendio de cuatro trabajos de investigación ya publicados, de los que tres han sido publicados en revistas científicas indexadas en el Journal Citation Reports (JCR) de Web of Science, tal y como se establece en la normativa de la Universidad de Zaragoza.

A continuación, se presentan las referencias bibliográficas completas de los cuatro artículos publicados ordenados cronológicamente de más reciente a más antiguo, haciendo contar que todos ellos están centrados en la aplicación de la ablación por radiofrecuencia en oncología veterinaria, lo que justifica su unidad temática:

- 1) **Alfárez MD**, Corda A, de Blas I, Gago L, Fernandes T, Rodríguez-Piza I, Balañá B, Pentcheva P, Caruncho J, Barbero-Fernández A, Llinás J, Rivas D, Escudero A, Gómez-Ochoa P. *Computed Tomography-Guided Radiofrequency Ablation of Nasal Carcinomas in Dogs. **Animals*** (Basel), 2024;14(24):3682. doi: 10.3390/ani14243682.
- 2) **Alfárez MD**, Corda A, de Blas I, Gago L, Fernandes T, Rodríguez-Piza I, Balañá B, Corda F, Gómez Ochoa P. *Percutaneous Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation as a Therapeutic Approach for the Management of Insulinomas and Associated Metastases in Dogs. **Animals***, 2024;14(22):3301. doi: 10.3390/ani14223301.
- 3) Gómez Ochoa P, **Alfárez MD**, de Blas I, Fernandes T, Sánchez Salguero X, Balañá B, Meléndez Lazo A, Barbero Fernandez A, Caivano D, Corda F, Corda A. *Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation of Chemodectomas in Five Dogs. **Animals***, 2021;11(10):2790. doi: 10.3390/ani11102790.
- 4) Gómez Ochoa P, Barbero Fernández A, **Alfárez Reyes MD**, Zoco Herrero G, Sanmartin Arroita U, Melendez Lazo A. *Ablación por radiofrecuencia percutánea en un feocromocitoma adrenal con invasión de la vena cava caudal. **Axon Vet - Novedades en Veterinaria***. 2022:1-5. URL: <https://axoncomunicacion.net/ablacion-por-radiofrecuencia-percutanea-en-un-feocromocitoma-adrenal-con-invasion-de-la-vena-cava-caudal/>

1. Introducción general

1.1. Ablación por radiofrecuencia

1.1.1. Perspectiva histórica

La ablación por radiofrecuencia (RFA) representa uno de los avances más significativos en el campo de las terapias ablativas mínimamente invasivas. Sus orígenes se remontan a finales del siglo XIX, cuando d'Arsonval demostró que las corrientes alternas con frecuencias superiores a 10 kHz podían generar calor en los tejidos biológicos sin provocar estimulación neuromuscular (McGahan y van Raalte, 2005; Organ, 1976). Este descubrimiento fundamental estableció las bases biofísicas para su desarrollo posterior.

La primera aplicación clínica documentada de la radiofrecuencia se produjo en 1931, cuando Kirschner utilizó la corriente de alta frecuencia para la coagulación tisular en procedimientos neuroquirúrgicos (O'Connor y Bloom, 1996; Zhitny et al., 2024). Sin embargo, el desarrollo significativo no se materializó hasta la década de 1990, cuando se introdujeron los primeros sistemas de RFA con control de temperatura, lo que permitió una mayor precisión y seguridad en los procedimientos (McGahan et al., 1990; Borggreffe et al., 1990).

La evolución tecnológica experimentó un punto de inflexión con la introducción de los electrodos refrigerados en 1995, una innovación que permitió alcanzar volúmenes de ablación significativamente mayores. Este avance fue seguido por el desarrollo de electrodos expandibles y sistemas de múltiples electrodos, que ampliaron considerablemente las posibilidades terapéuticas de la técnica (Pekola et al., 2007; Kafanov et al., 2009; Hong y Georgiades, 2010; Zhang et al., 2024).

En el ámbito de la medicina veterinaria, la adopción de las terapias ablativas ha seguido un patrón similar al de la medicina humana, aunque con un desfase temporal. Los primeros estudios en modelos animales, realizados principalmente en cerdos y perros, sirvieron como base fundamental para el desarrollo de protocolos en medicina humana (Fegrachi et al., 2014; Bullone et al., 2020; Liu et al., 2020). Sin embargo, la aplicación como terapéutica específica en pacientes oncológicos veterinarios no ha empezado a ser una realidad hasta hace unos pocos años (Leal et al., 2018; Gomez Ochoa et al., 2021; Alferez et al., 2024a, 2024b).

La evolución de los sistemas de imagen guiada, particularmente la ecografía y la tomografía computarizada, ha sido fundamental y ha condicionado las innovaciones procedimentales, como en muchas otras ramas de la medicina. La incorporación de estos métodos de visualización ha permitido una planificación más precisa, así como un control en tiempo real durante la ablación, factores que han contribuido

significativamente a mejorar la seguridad y eficacia de la técnica (Wood et al., 2010; Chang et al., 2011; Pannone et al., 2022; Faiella et al., 2024; Evans et al., 2025).

En la actualidad, las técnicas ablálicas se han consolidado como una opción terapéutica viable en el tratamiento de diversas neoplasias, tanto en medicina humana como veterinaria. Los avances tecnológicos continúan expandiendo sus aplicaciones, con desarrollos recientes que incluyen sistemas de navegación asistida por computadora y algoritmos de control más sofisticados que optimizan la deposición de energía en los tejidos diana (Malik et al., 2011; Cedeno et al., 2017; Lee y Lee, 2018; Habibi et al., 2021; Biermann et al., 2024; Schmidt et al., 2024).

1.1.2. Principios físicos

La RFA se fundamenta en principios electromagnéticos y termodinámicos complejos que determinan su eficacia terapéutica. Este método utiliza corriente alterna de alta frecuencia, típicamente en el rango de 450-500 kHz, para inducir la destrucción térmica controlada del tejido diana (Pennes, 1948; Organ, 1976). El espectro electromagnético se modela como un espectro continuo de frecuencias de cuantos de energía sin masa en vibración. La radiación electromagnética está compuesta tanto por un campo eléctrico como por un campo magnético, los cuales se encuentran orientados a 90° entre sí. La radiación electromagnética, cuya frecuencia se encuentra entre 3 y 300 GHz, se define como ondas radioeléctricas (Figura 1). La comprensión profunda de estos principios físicos resulta fundamental para optimizar su aplicación clínica (Funk et al., 2009).

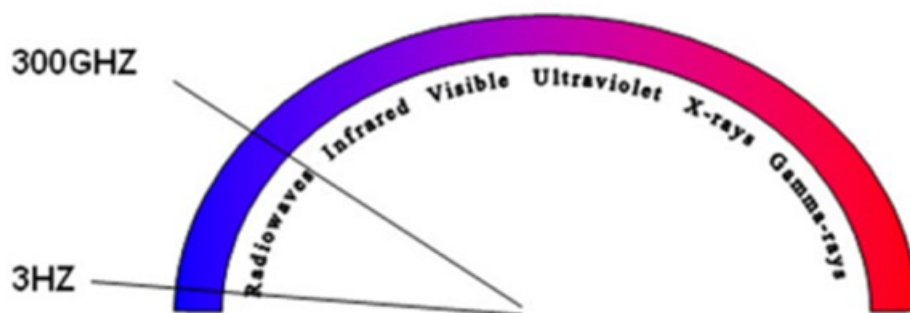


Figura 1. Rango de frecuencia correspondiente a las ondas radioeléctricas (Hong et al., 2010)

La base conceptual se estructura en torno a cinco elementos fundamentales interrelacionados que determinan la eficacia y seguridad del procedimiento ablativo. En primer término, los fundamentos electromagnéticos establecen el marco teórico esencial, describiendo el comportamiento de los campos electromagnéticos oscilantes en el rango de radiofrecuencia y su propagación en medios biológicos (Ihnat et al., 2014). La interacción entre la energía electromagnética y el tejido constituye el segundo pilar conceptual, caracterizando los mecanismos de absorción energética y las respuestas tisulares consecuentes (Nittby et al., 2008; Houston et al., 2016; Audigier et al., 2017; Lin et al., 2023; Hoffer et al., 2024). Los procesos de generación

y transferencia de calor representan el tercer elemento crítico, estableciendo los principios termodinámicos que gobiernan la distribución térmica en el tejido diana (Haines y Watson, 1989; Nikfarjam et al., 2005; Lin et al., 2022). La impedancia y conductividad tisular, como cuarto componente, determinan las características de transmisión energética y la eficiencia del proceso ablativo (Hardie et al., 2006; Guo et al., 2024). Finalmente, los fenómenos biofísicos asociados a la muerte celular térmica establecen los parámetros críticos que definen la efectividad terapéutica del procedimiento (Fujiki, 2004). La integración de estos conceptos fundamentales proporciona el marco teórico necesario para la optimización de los protocolos de ablación y el desarrollo de estrategias terapéuticas innovadoras en la práctica clínica veterinaria.

1.1.2.1. Fundamentos electromagnéticos

La técnica opera mediante la aplicación de corriente alterna en frecuencias superiores a 100 kHz, un umbral crítico que evita la estimulación neuromuscular indeseada. Este fenómeno encuentra su fundamentación teórica en la ley de Weiss-Lapicque, que establece una correlación inversa entre la frecuencia de la corriente aplicada y la capacidad de despolarización celular, proporcionando así el marco teórico que sustenta la seguridad del procedimiento (Irnich, 1989).

La caracterización física del proceso está basada en las ecuaciones de Maxwell, que describen de manera exhaustiva las interacciones entre los diversos componentes del campo electromagnético en medios dieléctricos biológicos heterogéneos. Estas ecuaciones establecen las relaciones entre el campo eléctrico (E), el campo magnético (H), la densidad de flujo magnético (B), la densidad de corriente (J), el desplazamiento eléctrico (D) y la densidad de carga (ρ). La interacción electromagnética resultante genera un campo variable que induce el desplazamiento oscilatorio de iones y moléculas polares en el tejido, dando lugar a un calentamiento friccional localizado que constituye el mecanismo esencial del efecto terapéutico. Por tanto, el movimiento de los iones alineándose con el campo eléctrico alterno genera fricción y calor (Gratiy et al., 2017).

La propagación de las ondas electromagnéticas en los tejidos biológicos presenta características distintivas debido a su naturaleza dispersiva y atenuante, modelada mediante la ecuación de Helmholtz modificada. Esta ecuación incorpora parámetros críticos como la permeabilidad magnética (μ_0), la permitividad dieléctrica del vacío (ϵ_0), la permitividad relativa compleja del tejido (ϵ_r) y su conductividad eléctrica (σ). La complejidad inherente a los tejidos biológicos como medios no homogéneos y anisotrópicos introduce consideraciones adicionales en el modelado de la disipación y transmisión energética, aspectos fundamentales para la predicción y optimización de la interacción electromagnética con estructuras tisulares específicas (Kienle et al., 2004).

La profundidad de penetración del campo electromagnético, parámetro crucial para la eficacia terapéutica, está determinada por el factor de atenuación (α), que depende de la frecuencia angular (ω), la permeabilidad magnética (μ) y la permitividad dieléctrica (ϵ) del tejido. Este factor establece una relación inversamente proporcional entre la frecuencia y la capacidad de penetración tisular, aspecto determinante en la planificación terapéutica para garantizar que el efecto térmico alcance las regiones diana sin comprometer la integridad de tejidos adyacentes (Foster y Schwan, 1989; Kienle et al., 2004; Lv et al., 2005; Rossmann y Haemmerich, 2014; Fiedler et al., 2018; Samuels et al., 2022; Sasaki et al., 2022; Qin et al., 2023).

La distribución espacial del campo eléctrico en el tejido objetivo sigue un patrón característico modelado mediante la ecuación del potencial eléctrico, $\nabla \cdot (\sigma \nabla V) = 0$, donde σ representa el tensor de conductividad del tejido y V el potencial eléctrico. Esta formulación matemática contempla la anisotropía inherente a los tejidos biológicos, particularmente relevante en estructuras anatómicas complejas, donde la variabilidad en la conductividad eléctrica y térmica influye directamente en los patrones de dispersión y concentración del calor generado (Reddy et al., 2023; Jiao et al., 2024).

1.1.2.2. Interacción energía-tejido

Como se ha comentado anteriormente el mecanismo fundamental de la RFA se basa en la agitación iónica inducida por el campo electromagnético alternante. Los iones presentes en el tejido, principalmente Na^+ , K^+ y Cl^- , oscilan siguiendo las variaciones de polaridad de la corriente eléctrica. Este movimiento iónico genera fricción molecular, que se traduce en calor según la ley de Joule (Hanna, 2004; Gillams, 2005). Esta interacción entre la energía electromagnética y el tejido biológico durante la ablación constituye un proceso multifacético que involucra diversos mecanismos de transferencia energética y respuestas tisulares. Los mecanismos subyacentes de absorción energética se fundamentan principalmente en la polarización dieléctrica del tejido, donde el campo eléctrico oscilante induce una polarización molecular caracterizada por un momento que responde a una relación no lineal con el campo eléctrico local (Gadaleta et al., 2004) (Figura 2).

La dinámica de las corrientes de desplazamiento en el medio biológico representa otro mecanismo fundamental de interacción energética, manifestándose a través de la variación temporal del campo de desplazamiento eléctrico y la polarización del medio. Este proceso se cuantifica mediante la densidad de corriente de desplazamiento, que integra tanto la contribución del vacío como la respuesta específica del tejido a través de su polarización inducida.

La disipación energética en el tejido se produce mediante dos mecanismos principales: las pérdidas dieléctricas y las pérdidas óhmicas. Las pérdidas dieléctricas se cuantifican mediante la potencia disipada por unidad de volumen. Por su parte, las pérdidas

óhmicas, manifestadas a través del efecto Joule, establecen una relación directa entre la conductividad del tejido y la intensidad del campo eléctrico local (Karaki et al., 2017).

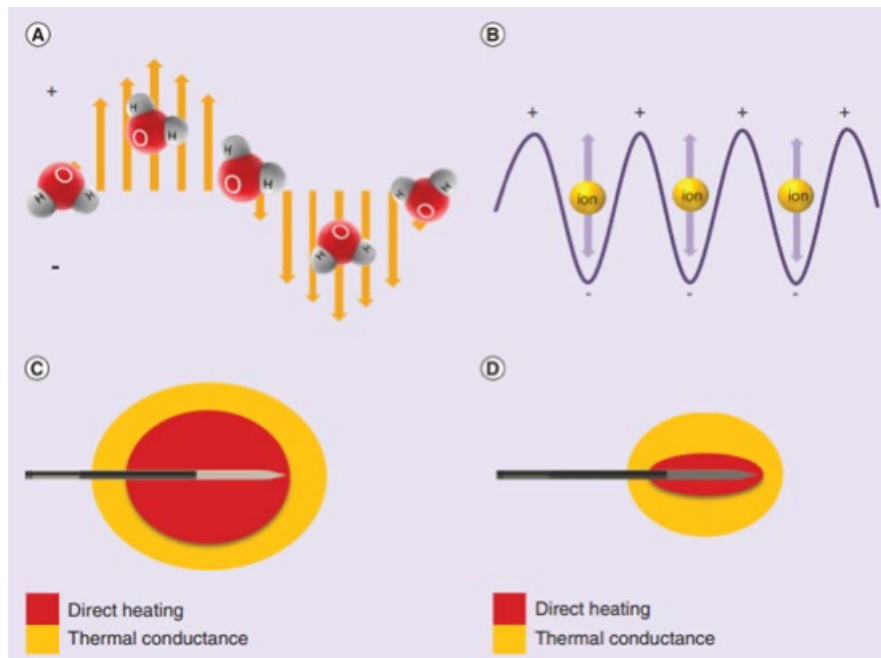


Figura 2. Mecanismo de acción y transferencia de calor en la ablación por microondas y la ablación por radiofrecuencia. Ablación por microondas (A y C); ablación por radiofrecuencia (B y D) (Kim, 2018)

La transferencia energética en el tejido biológico exhibe un carácter multimodal, caracterizado por un acoplamiento electromagnético-térmico complejo. Este proceso se describe mediante una versión expandida de la ecuación de biotransferencia de calor, que incorpora términos específicos para la fuente de calor electromagnética (QEM), el calor metabólico (Qm) y las pérdidas por perfusión (Qp). La no linealidad inherente a estas interacciones se manifiesta a través del tensor de susceptibilidad no lineal, que caracteriza la respuesta del tejido ante campos electromagnéticos de alta intensidad (Kotake et al., 2022).

La respuesta tisular presenta una naturaleza dinámica, evidenciada por la modificación temporal de sus propiedades dieléctricas durante el proceso de ablación. Esta evolución sigue una cinética compleja que depende tanto de la temperatura como del tiempo de exposición, representada mediante una función de modificación térmica temporal que modula la susceptibilidad del tejido. Los cambios estructurales inducidos por la ablación se caracterizan mediante un tensor de deformación térmica, que relaciona la expansión del tejido con el gradiente térmico aplicado.

La distribución térmica en el tejido sigue los principios establecidos por la ecuación de biotransferencia de calor de Pennes, que integra los efectos de conducción térmica, generación de calor y perfusión sanguínea. Esta ecuación diferencial parcial contempla parámetros críticos como la densidad tisular, el calor específico, la conductividad

térmica y el flujo sanguíneo, proporcionando un marco matemático robusto para la predicción de la distribución espaciotemporal de la temperatura durante el procedimiento de ablación (Tuszynski y Costa, 2022).

La naturaleza no lineal y acoplada de estos procesos, caracterizada por interacciones multifísicas complejas entre los campos electromagnéticos, la transferencia de calor y las modificaciones estructurales del tejido, presenta desafíos significativos para su modelización matemática y simulación computacional (Ahmed et al., 2014; Hall et al., 2014). Esta complejidad inherente, derivada de la interdependencia de múltiples variables físicas y biológicas que evolucionan dinámicamente durante el procedimiento, subraya la importancia de implementar enfoques multifísicos avanzados en el modelado y la planificación de procedimientos de RFA (Rivas et al., 2021; Gonzalez-Suarez et al., 2022). La variabilidad en las propiedades tisulares, junto con la naturaleza no estacionaria de los fenómenos involucrados, requiere el desarrollo de modelos matemáticos sofisticados que integren simultáneamente las ecuaciones constitutivas electromagnéticas, térmicas y estructurales, estableciendo así un marco teórico robusto para la optimización terapéutica del procedimiento.

1.1.2.3. Impedancia y conductividad tisular

La impedancia tisular (Z), definida como la resistencia que opone un tejido biológico al paso de corriente eléctrica alterna, constituye un parámetro biofísico fundamental que determina significativamente la eficacia de los procedimientos de RFA (Nguyen et al., 2020; Chu y Gupta, 2021; Osei et al., 2021). Este fenómeno físico complejo integra tanto componentes resistivos como capacitivos, manifestándose a través de una interrelación dinámica entre las propiedades dieléctricas del tejido y su respuesta a campos electromagnéticos oscilantes.

Las características impedancimétricas de los tejidos biológicos emergen de su composición estructural y molecular subyacente. Los tejidos con elevado contenido en agua y electrolitos presentan perfiles de impedancia sustancialmente diferentes a aquellos caracterizados por un predominio de componentes fibrosos o lipídicos. Esta heterogeneidad composicional se refleja en las propiedades dieléctricas fundamentales del tejido, específicamente en su permitividad relativa y conductividad eléctrica, parámetros que establecen la base para la interacción electromagnética durante el procedimiento ablativo (Hwang et al., 2021; Duenas et al., 2024).

La respuesta impedancimétrica tisular exhibe una notable dependencia frecuencial, caracterizada por el fenómeno de dispersión de Maxwell-Wagner. Este comportamiento frecuencial refleja los diversos mecanismos de polarización molecular y celular que ocurren en diferentes rangos de frecuencia, manifestándose a través de variaciones significativas en la permitividad compleja del tejido. La caracterización de esta dependencia frecuencial resulta crucial para la optimización de

los parámetros operativos en la RFA. Los efectos térmicos inducidos durante el procedimiento ablativo modifican sustancialmente las propiedades de conducción eléctrica del tejido. La conductividad tisular experimenta alteraciones no lineales en función de la temperatura, siguiendo patrones complejos que reflejan las modificaciones estructurales y moleculares subyacentes. Esta dependencia térmica de la impedancia introduce un factor adicional de complejidad en la dinámica del procedimiento ablativo, estableciendo una retroalimentación continua entre la deposición energética y las propiedades eléctricas del tejido (Bourier et al., 2020; Qian et al., 2021).

1.1.2.4. Muerte celular térmica

El proceso de muerte celular inducida térmicamente durante la RFA constituye un fenómeno biofísico de extraordinaria complejidad, caracterizado por una cascada de eventos moleculares y celulares que pueden ser cuantificados mediante modelos matemáticos precisos (Lin et al., 2003; Lee et al., 2005; Nikfarjam et al., 2006; Kim et al., 2011; Zhang et al., 2016). La cinética del daño térmico encuentra su expresión matemática fundamental en la ecuación de Arrhenius modificada para sistemas biológicos, que incorpora factores de compensación fisiológica ($f(p)$) y contempla la energía de activación específica del proceso (E_a). Esta formulación matemática, expresada como $\Omega(t) = \int A \cdot \exp(-E_a/RT) \cdot f(p) dt$, caracteriza cuantitativamente el daño celular acumulativo (Goldberg et al., 2005; Vanagas et al., 2010; Trujillo y Berjano, 2013; Bai et al., 2021; Crapse et al., 2021).

La respuesta celular al estrés térmico exhibe un comportamiento progresivo y dependiente de la temperatura, manifestándose en tres fases distintivas. La fase inicial de estrés subletal, comprendida entre 42-45 °C, se caracteriza por la activación de mecanismos de protección celular, principalmente mediante la inducción de proteínas de choque térmico (HSP) y modificaciones reversibles en la permeabilidad de la membrana plasmática. La transición hacia la fase de daño irreversible ocurre en el rango de 46-49 °C, donde se evidencia la desnaturalización proteica progresiva y la disrupción de elementos del citoesqueleto. La fase final de necrosis coagulativa, establecida a temperaturas superiores a 50 °C, representa el estado de máxima degradación estructural, caracterizado por la desnaturalización inmediata de proteínas estructurales y la destrucción irreversible de orgánulos celulares.

La eficacia del proceso ablativo está modulada por factores tisulares específicos, entre los que destaca la perfusión sanguínea local, que se mencionará en profundidad más adelante dentro del apartado de limitaciones de la técnica. La evaluación cuantitativa del daño tisular se fundamenta en el índice de lesión térmica acumulativa (CEM43), expresado mediante la integral $CEM43 = \int R^{(43-T)} dt$. Este modelo matemático permite la normalización de diferentes regímenes térmicos y facilita la predicción de resultados terapéuticos mediante la incorporación del factor de conversión

temporal (R) y la temperatura tisular instantánea (T). La implementación de este índice proporciona una herramienta fundamental para la optimización de protocolos terapéuticos y la estandarización de procedimientos ablativos. La integración de estos modelos matemáticos, la monitorización de parámetros térmicos y la predicción del daño tisular mediante estas formulaciones facilitan la personalización terapéutica y la maximización de la eficacia clínica en procedimientos de RFA (Ahmed et al., 2014; Hall et al., 2014; Gonzalez-Suarez et al., 2022).

1.1.3. Aspectos técnicos

Los aspectos técnicos de la RFA constituyen un conjunto de elementos críticos e interrelacionados que determinan significativamente la eficacia, reproducibilidad y seguridad del procedimiento terapéutico. La complejidad tecnológica inherente al sistema de ablación requiere un análisis exhaustivo de sus diversos componentes, abarcando desde la caracterización de los generadores de radiofrecuencia y sus especificaciones operativas, hasta el diseño y configuración de los sistemas de electrodos. La integración sinérgica de los sistemas de refrigeración, junto con la optimización de las placas de dispersión, establece los fundamentos para una aplicación precisa y controlada. Asimismo, el desarrollo de protocolos estandarizados de aplicación y monitorización, en conjunción con sistemas avanzados de imagen guiada, proporciona el marco operativo necesario para la consecución de resultados terapéuticos reproducibles.

1.1.3.1. Tipos de generadores y sus características

Los generadores de radiofrecuencia constituyen el núcleo tecnológico fundamental de los sistemas de ablación térmica, siendo los responsables de la producción y modulación de la energía electromagnética necesaria para inducir el efecto terapéutico deseado. La evolución tecnológica de estos dispositivos ha permitido el desarrollo de sistemas cada vez más sofisticados, caracterizados por su precisión, versatilidad y capacidad de adaptación a las condiciones tisulares específicas durante el procedimiento ablativo (Hong y Georgiades, 2010; Lohr y Kulwicki, 2010; Strand et al., 2024).

Los generadores contemporáneos operan en el rango de radiofrecuencia entre 450 y 500 kHz, una banda de frecuencia específicamente seleccionada por sus características óptimas de interacción con el tejido biológico. Este rango frecuencial permite la generación eficiente de calor mediante agitación iónica mientras se minimiza el riesgo de estimulación neuromuscular. La potencia máxima de salida de estos dispositivos oscila típicamente entre 100 y 250 W, aunque la tendencia actual se orienta hacia el desarrollo de sistemas de mayor potencia que permitan la generación de volúmenes de ablación más extensos en tiempos reducidos (Dobnig y Amrein, 2019; Aydin et al., 2020; Filippiadis y Kelekis, 2021; Fritz et al., 2023; Vitulli et al., 2023).

Desde el punto de vista operativo, los generadores de radiofrecuencia pueden clasificarse en tres categorías fundamentales: sistemas monopolares, bipolares y multiplexados. Los generadores monopolares, que constituyen la configuración más ampliamente implementada en la práctica clínica, producen corrientes de alta frecuencia entre un electrodo activo de dimensiones reducidas y una placa dispersiva de mayor superficie. Esta configuración permite la concentración de la densidad de corriente en el tejido diana, maximizando el efecto térmico local. Los sistemas bipolares, por su parte, distribuyen la corriente entre dos electrodos activos de dimensiones similares, eliminando la necesidad de una placa dispersiva y permitiendo un control más preciso del volumen de ablación. Los sistemas multiplexados representan la evolución más reciente, incorporando capacidades de conmutación que permiten la activación secuencial o simultánea de múltiples electrodos, optimizando la distribución energética en el tejido diana (Dobnig y Amrein, 2019; Aydin et al., 2020; Filippiadis y Kelekis, 2021; Fritz et al., 2023; Vitulli et al., 2023) (Figura 3).



Figura 3. Generador de radiofrecuencia con medidor de impedancia empleado en los procedimientos (Boston Scientific RF3000)

La sofisticación de los sistemas de control integrados en los generadores modernos constituye un aspecto fundamental de su diseño. Estos dispositivos incorporan microprocesadores dedicados que implementan algoritmos adaptativos para la modulación en tiempo real de los parámetros de ablación. El control de potencia puede realizarse mediante diversos mecanismos, incluyendo sistemas de potencia constante, control por impedancia y modalidades híbridas que combinan múltiples parámetros de regulación (Wood et al., 2007; Sandhu y Nguyen, 2020). Los sistemas de potencia constante mantienen un nivel predeterminado de energía entregada, ajustando automáticamente el voltaje en función de las variaciones de impedancia tisular. Los sistemas controlados por impedancia modulan la potencia en respuesta a los cambios en la resistencia eléctrica del tejido, permitiendo una adaptación más precisa a las modificaciones tisulares inducidas por el proceso ablativo.

La monitorización de parámetros críticos constituye una función esencial de los generadores modernos. Estos sistemas integran capacidades de medición y registro continuo de variables fundamentales como impedancia tisular, temperatura local, potencia entregada y energía total depositada. La precisión en la medición de estos parámetros resulta crucial para la seguridad y eficacia del procedimiento, requiriendo sistemas de calibración automática y compensación de errores. Los generadores contemporáneos incorporan también sistemas redundantes de seguridad, incluyendo monitorización de circuito abierto, detección de cortocircuitos y límites automáticos de potencia y temperatura.

La interfaz usuario-máquina ha experimentado una evolución significativa, incorporando pantallas táctiles de alta resolución que proporcionan visualización en tiempo real de parámetros críticos y representaciones gráficas de la evolución temporal del procedimiento. Los sistemas más avanzados integran capacidades de registro y almacenamiento de datos que permiten el análisis retrospectivo y la optimización de protocolos terapéuticos. La conectividad con sistemas externos de imagen y monitorización representa una tendencia emergente, permitiendo la integración de información multimodal durante el procedimiento ablativo.

1.1.3.2. Diseño y configuración de electrodos

Los electrodos empleados en la RFA representan el punto de conexión crítico entre el sistema generador y el tejido diana, constituyendo un elemento determinante en la eficacia y seguridad del procedimiento ablativo. La evolución tecnológica en su diseño ha permitido el desarrollo de configuraciones cada vez más sofisticadas, adaptadas a las particularidades anatómicas y los requerimientos terapéuticos específicos de cada intervención (Martel et al., 2008).

Los sistemas monopolares, que constituyen la configuración predominante en la práctica clínica veterinaria, se caracterizan por la presencia de un electrodo activo de dimensiones reducidas y una placa dispersiva de mayor superficie. Esta configuración permite la concentración de la densidad de corriente en el tejido diana, maximizando el efecto térmico local mientras se minimiza el impacto en tejidos adyacentes. La geometría del electrodo activo ha experimentado una evolución significativa, desde los diseños iniciales de punta recta hasta configuraciones expandibles multilíneas que permiten la adaptación del volumen de ablación a las características específicas de la lesión (Lee et al., 2004a; Nakamuta et al., 2006; Quaranta et al., 2007; Martel et al., 2008; Wakui et al., 2009; Hirakawa et al., 2013; Costanzo et al., 2017; Fang et al., 2019; Jiang et al., 2019; De Filippo et al., 2020; Park et al., 2024) (Figura 4).

Los electrodos convencionales de punta recta, con diámetros que oscilan entre 14 y 19 G y longitudes activas variables entre 0,5 y 5 cm, mantienen su vigencia en procedimientos que requieren precisión milimétrica o acceso a localizaciones

anatómicas complejas. Su diseño incorpora sensores térmicos integrados, típicamente termopares o termistores, estratégicamente posicionados para la monitorización precisa de la temperatura tisular durante el procedimiento (Lee et al., 2004a; Nakamuta et al., 2006; Jiang et al., 2019).



Figura 4. Electrodo de Leveen expandible en forma de paraguas. (a) Vista longitudinal, (b) vista transversal (Boston Scientific).

Los sistemas expandibles representan una evolución significativa en el diseño de electrodos, permitiendo la generación de volúmenes de ablación más extensos y homogéneos. Estos dispositivos incorporan múltiples elementos desplegables que, una vez expandidos, pueden alcanzar diámetros efectivos de hasta 5 cm. Las configuraciones más frecuentes incluyen diseños en paraguas, con agujas curvadas que emergen desde el eje central, y sistemas de despliegue helicoidal que maximizan el contacto con el tejido diana (Quaranta et al., 2007; De Filippo et al., 2020; Park et al., 2024).

Los materiales empleados en la construcción de electrodos deben satisfacer requisitos estrictos de conductividad eléctrica, resistencia mecánica y biocompatibilidad. El acero inoxidable quirúrgico y las aleaciones de titanio constituyen los materiales base más frecuentemente utilizados, complementados con recubrimientos específicos que optimizan la interfaz electrodo-tejido. La integración de materiales cerámicos o plásticos en zonas estratégicas permite el aislamiento térmico y eléctrico de segmentos específicos del electrodo (Martel et al., 2008; Wakui et al., 2009; Hirakawa et al., 2013; Costanzo et al., 2017; Fang et al., 2019).

1.1.3.3. Sistemas de refrigeración y control

La implementación de sistemas de refrigeración en los dispositivos de RFA ha constituido un avance tecnológico fundamental, permitiendo la superación de limitaciones críticas inherentes a los sistemas convencionales (Nguyen et al., 2017; da Fonseca et al., 2019; Kho et al., 2021; Kho et al., 2024; Ma et al., 2024). El principal objetivo de estos sistemas consiste en la prevención de la carbonización tisular perielectrodo, fenómeno que incrementa significativamente la impedancia local y limita la transferencia energética al tejido diana (Lee et al., 2002; Kim et al., 2003; Gananadha y Morris, 2004; Hansler et al., 2007; Ishikawa et al., 2013; Wang et al., 2018; Kho et al., 2020; Park et al., 2023).

En la mitad superior de la Figura 5 se observa una zona de ablación más extensa en comparación con la representada en la parte inferior. Esto se debe a que un aumento más rápido en la energía suministrada al electrodo provoca la carbonización del tejido adyacente, lo que impide la propagación eficiente de la energía.

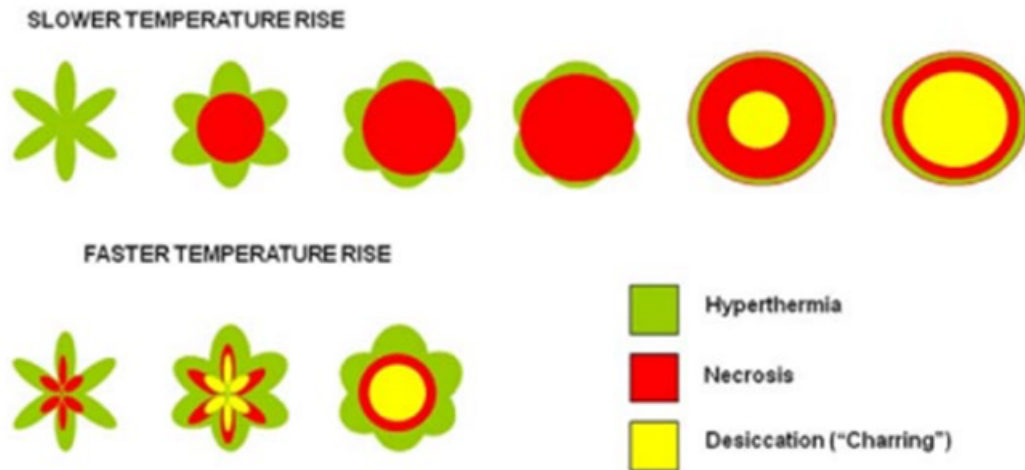


Figura 5. Proceso de formación de la termosfera de ablación mediante un electrodo de radiofrecuencia tipo paraguas visto en sección transversal (Hong et al., 2010)

La refrigeración interna mediante circulación de solución salina refrigerada representa el método más ampliamente utilizado en la práctica clínica. Este sistema emplea un circuito cerrado que mantiene un flujo continuo de solución salina a temperaturas entre 4 y 10 °C a través de canales específicamente diseñados en el electrodo. La eficiencia del intercambio térmico permite el mantenimiento de temperaturas perielectrodo por debajo del umbral de carbonización (aproximadamente 100 °C) mientras se alcanzan temperaturas terapéuticas en el tejido circundante.

Los sistemas de refrigeración perfundida constituyen una variante que incorpora la infusión directa de solución salina en el tejido perielectrodo. Esta modalidad combina el efecto refrigerante con la modificación de las propiedades conductivas del tejido, permitiendo una distribución más homogénea de la energía (Lee et al., 2002; Kim et al., 2003; Gananadha y Morris, 2004; Hansler et al., 2007; Ishikawa et al., 2013; Wang et al., 2018; Kho et al., 2020; Park et al., 2023,) (Figura 6).

La integración de sistemas de control térmico sofisticados permite la modulación dinámica de los parámetros de refrigeración en función de las condiciones tisulares locales (Aryana et al., 2022). Los algoritmos de control procesan en tiempo real datos de múltiples sensores, incluyendo temperatura tisular, impedancia local y potencia entregada, ajustando automáticamente los parámetros de refrigeración para optimizar el procedimiento ablativo.

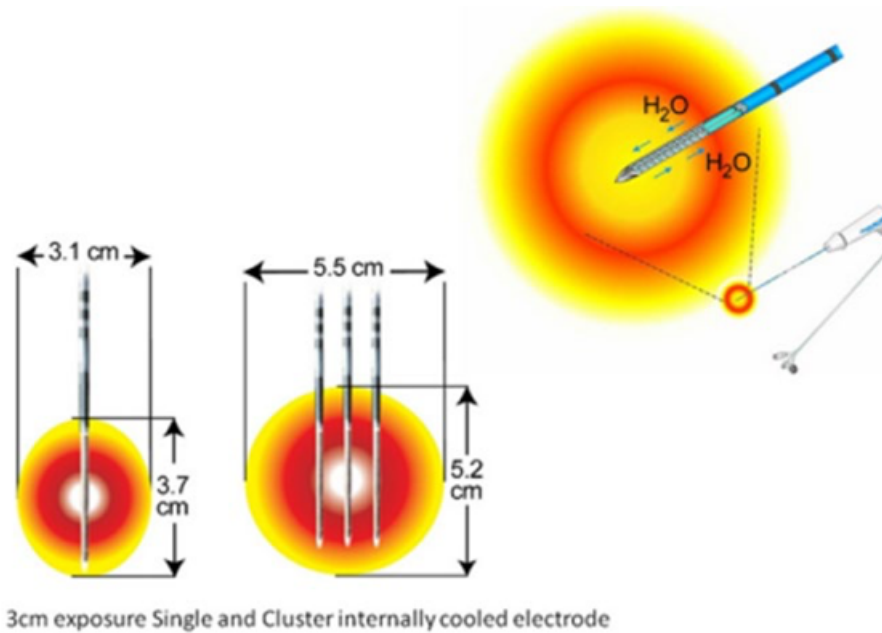


Figura 6. Diseño de un electrodo refrigerado y de cómo cambia el tamaño de la termoesfera cuando se emplean electrodos de tipo agrupado (Hong et al., 2010)

1.1.3.4. Placas de dispersión

Las placas de dispersión constituyen un componente fundamental en los sistemas monopoles de RFA. Este elemento determina tanto la eficacia del procedimiento como la seguridad del paciente. Su función primaria consiste en proporcionar una vía de retorno de baja impedancia para la corriente de radiofrecuencia, permitiendo el cierre del circuito eléctrico en configuraciones monopoles mediante la distribución de la densidad de corriente sobre una superficie significativamente mayor que la del electrodo activo, minimizando así el efecto térmico en el punto de contacto con la superficie cutánea (Nath et al., 1996; Thiagalingam et al., 2005; Taheri et al., 2014; Pearce, 2015; Futyma et al., 2024; Irastorza et al, 2024) (Figura 7).



Figura 7. Placa de dispersión dividida (3M)

Las especificaciones técnicas de las placas de dispersión establecen áreas mínimas de contacto que oscilan entre 150 y 200 cm², dimensionamiento fundamentado en estudios experimentales que han determinado el mantenimiento de densidades de corriente inferiores a 0,1 A/cm² como umbral superior para prevenir el daño térmico cutáneo durante procedimientos prolongados. Esta relación entre superficie efectiva y densidad de corriente constituye un parámetro crítico en el diseño y selección de estos dispositivos, determinando en gran medida su perfil de seguridad durante la aplicación clínica (Nath et al., 1996; Thiagalingam et al., 2005; Taheri et al., 2014; Pearce, 2015; Futyma et al., 2024; Irastorza et al., 2024).

La evolución tecnológica en el diseño de placas de dispersión ha permitido el desarrollo de diferentes configuraciones, incluyendo placas sólidas constituidas por una lámina conductora continua, placas divididas que incorporan zonas conductoras segmentadas con sistemas integrados de monitorización de calidad de contacto, y placas adhesivas conductoras que integran el material conductor en una matriz adhesiva optimizada para la distribución de presión de contacto. Cada configuración presenta ventajas específicas en términos de distribución de corriente, monitorización de contacto y adaptación a superficies anatómicas irregulares.

La localización óptima de la placa de dispersión debe considerar la minimización de la distancia al electrodo activo, evitando trayectorias de corriente a través de estructuras anatómicas sensibles y considerando la distribución vascular regional. La selección del sitio de aplicación debe priorizar áreas con adecuada masa muscular, evitando prominencias óseas y superficies con excesiva pilosidad, mientras se considera la perfusión tisular local como factor determinante en la eficiencia de la dispersión térmica (Nath et al., 1996; Thiagalingam et al., 2005; Taheri et al., 2014; Pearce, 2015; Futyma et al., 2024; Irastorza et al., 2024).

Los sistemas contemporáneos de monitorización incorporan mecanismos avanzados de control que incluyen la medición continua de la impedancia de contacto, sistemas de detección de despegamiento y algoritmos de monitorización térmica. Estos sistemas de seguridad permiten la identificación precoz de condiciones subóptimas que pudieran comprometer la seguridad del procedimiento.

La optimización del contacto entre la placa de dispersión y la superficie cutánea requiere una preparación meticulosa que incluye protocolos estandarizados de limpieza y desengrasado, eliminación de pelo cuando sea necesario, y aplicación uniforme de gel conductor. La verificación sistemática de la integridad del contacto, incluyendo la eliminación de burbujas de aire y la distribución uniforme de presión, resulta fundamental para garantizar la eficacia y seguridad del procedimiento.

1.1.3.5. Protocolos de aplicación y monitorización

Los protocolos de aplicación en la RFA constituyen algoritmos estandarizados que determinan la secuencia óptima de pasos y parámetros operativos para maximizar la eficacia y seguridad, garantizando la reproducibilidad de los resultados y minimizando la incidencia de complicaciones.

La fase inicial del procedimiento requiere una evaluación meticulosa de las características tisulares y la planificación detallada de la estrategia ablativa. La caracterización del tejido diana mediante técnicas de imagen diagnóstica permite la determinación de parámetros críticos como el volumen objetivo, la vascularización local y la proximidad a estructuras anatómicas sensibles. Esta información fundamenta la selección del tipo y configuración de electrodo más apropiado, así como la definición de los parámetros operativos iniciales (Figura 8).

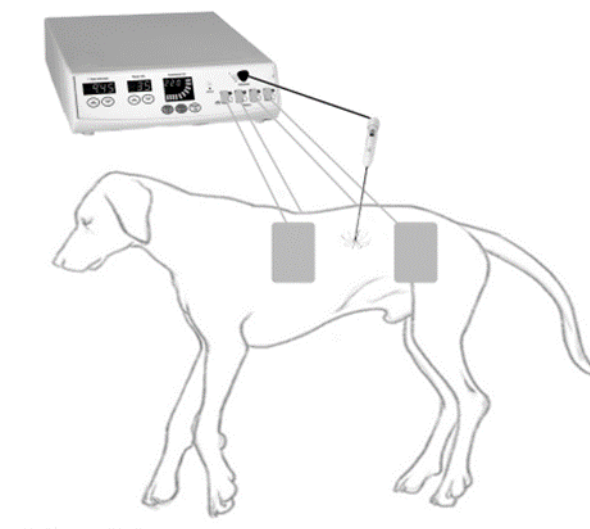


Figura 8. Posicionamiento de un paciente durante la aplicación de radiofrecuencia (fuente propia)

El protocolo de ablación estándar se inicia con una fase de aplicación de baja potencia, típicamente entre 10 y 30 W, que permite la evaluación de la respuesta tisular inicial y la detección precoz de anomalías en la impedancia o temperatura local. La progresión hacia niveles superiores de potencia sigue un algoritmo escalonado, con incrementos graduales monitorizados mediante la evaluación continua de parámetros críticos. La duración de cada fase viene determinada por la estabilización de los indicadores de respuesta tisular y la consecución de los objetivos térmicos establecidos (Ginat et al., 2009; Liu et al., 2012; Pillai et al., 2015; Zorbas y Samaras, 2015; Audigier et al., 2017; Wang et al., 2024).

La monitorización multiparamétrica constituye un elemento fundamental del protocolo, integrando datos de impedancia tisular, temperatura local, potencia entregada y tiempo de exposición. La vigilancia de estos parámetros permite la

detección precoz de fenómenos adversos, como la carbonización tisular o el sobrecalentamiento de estructuras adyacentes, facilitando la oportuna puesta en marcha de medidas correctivas.

1.1.3.6. Consideraciones sobre imagen guiada

La integración de sistemas de imagen guiada en los procedimientos de RFA ha revolucionado la precisión y seguridad de esta modalidad terapéutica. Las técnicas de imagen empleadas pueden clasificarse en tres categorías fundamentales: planificación pre-procedimiento, guía durante la intervención y evaluación post-ablación.

La planificación mediante técnicas de imagen avanzada, incluyendo, ecografía, tomografía computarizada y resonancia magnética con secuencias específicas, permite la caracterización detallada de la lesión diana y su relación con estructuras anatómicas críticas. La reconstrucción tridimensional y la planificación asistida por computadora facilitan la optimización de las trayectorias de acceso y la determinación del número y posición óptima de los electrodos.

La guía de imagen intra-procedimiento puede realizarse mediante diversas modalidades, siendo la ecografía y la tomografía computarizada las más frecuentemente implementadas en la práctica clínica. La ecografía en tiempo real proporciona visualización dinámica durante el posicionamiento del electrodo y permite la monitorización de la formación de la lesión térmica mediante la identificación de cambios en la ecogenicidad tisular. La tomografía computarizada, ofrece superior resolución espacial y mejor discriminación anatómica, aunque con limitaciones en la visualización en tiempo real (Christie y Loomis, 1929; McGahan et al., 1990; Rossi et al., 1990; McGahan et al., 1992; Goldberg et al., 1995; Chen et al., 2009).

La evaluación post-ablación mediante técnicas de imagen multimodal resulta fundamental para la confirmación de la extensión del tratamiento y la detección precoz de complicaciones. Los protocolos de imagen con contraste (ecográficos o por tomografía computarizada) y estudios de perfusión, permiten la caracterización precisa del volumen ablacionado y la identificación de tejido residual viable (Rossi et al., 1998; de Baere et al., 2001; Hong y Georgiades, 2010; Strand et al., 2024).

1.1.4. Limitaciones y efectos adversos

La RFA, pese a constituir una modalidad terapéutica mínimamente invasiva con demostrada eficacia en el tratamiento de diversas neoplasias, presenta limitaciones técnicas inherentes y potenciales efectos adversos que deben ser considerados meticulosamente en la planificación e desarrollo del procedimiento. Las limitaciones técnicas, derivadas tanto de las características físicas del sistema de ablación como de las propiedades biológicas del tejido diana, pueden condicionar significativamente la eficacia del procedimiento. Simultáneamente, el espectro de efectos adversos

potenciales, que abarca desde complicaciones inmediatas hasta secuelas tardías, requiere un abordaje sistemático tanto en su prevención como en su manejo terapéutico.

1.1.4.1. Limitaciones relacionadas con el tamaño tumoral y geometría

El tamaño tumoral representa una limitación técnica fundamental en la RFA, cuya relevancia deriva de los principios físicos que gobiernan la transferencia térmica en tejidos y las características inherentes de los sistemas de ablación disponibles en la actualidad. Las restricciones dimensionales se establecen generalmente en un umbral máximo de 3-5 cm de diámetro para lesiones únicas tratadas mediante electrodos convencionales, aunque esta limitación puede variar significativamente en función de las características específicas del tejido diana y la configuración del sistema ablativo empleado (Lee et al., 2004b; Stippel et al., 2004).

La penetración térmica efectiva constituye el factor físico determinante en esta limitación dimensional, caracterizándose por un gradiente térmico que decrece exponencialmente desde el punto de aplicación energética. Este fenómeno resulta en una distribución térmica heterogénea en volúmenes tisulares extensos, donde las regiones periféricas pueden no alcanzar temperaturas citotóxicas efectivas (superiores a 60 °C) mientras las zonas centrales experimentan sobrecalentamiento y potencial carbonización (Nikfarjam et al., 2005; Goldberg et al., 2000; Ahmed et al., 2011, 2014). La relación entre el volumen de tejido efectivamente tratado y la energía aplicada no mantiene una proporción lineal, observándose una eficiencia decreciente en la ablación de lesiones de mayor tamaño (Ellis et al., 2004; Ahmed et al., 2011).

La geometría tumoral irregular presenta desafíos técnicos adicionales que trascienden las limitaciones puramente dimensionales. Las configuraciones morfológicas complejas requieren estrategias de ablación adaptadas. El posicionamiento secuencial del electrodo en múltiples localizaciones, técnica que incrementa la complejidad del procedimiento y puede resultar en zonas de solapamiento térmico subóptimo o regiones periféricas inadecuadamente tratadas. La implementación de sistemas de electrodo múltiple, si bien permite abordar volúmenes mayores y geometrías complejas, introduce variables adicionales en términos de interacción térmica entre zonas de ablación y complejidad en la monitorización del procedimiento (Ellis et al., 2004; Ahmed et al., 2011,).

Las limitaciones geométricas se extienden más allá del volumen tumoral propiamente dicho, requiriendo la consideración de márgenes de seguridad oncológicos. La obtención de márgenes adecuados (típicamente 0,5-1,0 cm) en lesiones de morfología irregular puede resultar técnicamente compleja, particularmente en localizaciones anatómicas donde la expansión del volumen de tratamiento puede comprometer estructuras adyacentes críticas (Curley et al., 2000; Chen et al., 2006; Ahmed et al., 2014).

Por tanto, la planificación pre-procedimiento mediante técnicas de imagen avanzada resulta fundamental para abordar estas limitaciones, permitiendo la caracterización volumétrica precisa y la identificación de patrones de crecimiento irregular que pudieran comprometer la eficacia del tratamiento. La implementación de sistemas de navegación asistida por imagen y planificación computarizada ha permitido optimizar las estrategias de abordaje de lesiones geoméricamente complejas, aunque las limitaciones fundamentales relacionadas con la física de la transferencia térmica persisten (Goldberg et al., 2000, Lee et al., 2004b, Livraghi et al., 1999).

Los avances tecnológicos recientes en el diseño de electrodos, incluyendo sistemas expandibles de geometría variable y dispositivos de ablación conformacional, han permitido ampliar los límites dimensionales y mejorar la adaptabilidad a configuraciones tumorales irregulares. No obstante, la selección apropiada de casos considerando las limitaciones específicas relacionadas con el tamaño y la geometría tumoral continúa siendo un factor crítico en la optimización de los resultados terapéuticos (Ahmed et al., 2011, Lu et al., 2003, Solbiati et al., 2001, Stippel et al., 2004).

La investigación actual en el campo se orienta hacia el desarrollo de estrategias innovadoras para superar estas limitaciones, incluyendo la implementación de sistemas de ablación multimodal, algoritmos de control térmico adaptativo y tecnologías de monitorización en tiempo real que permitan una mejor adaptación a las características morfológicas específicas de cada lesión.

1.1.4.2. Limitaciones por localización anatómica

La localización anatómica de la lesión diana constituye un factor determinante que puede condicionar significativamente tanto la viabilidad técnica como la seguridad del procedimiento ablativo. Las restricciones derivadas del contexto anatómico específico requieren una consideración meticulosa durante la fase de planificación terapéutica, pudiendo constituir en determinados casos una contraindicación absoluta para la técnica.

La proximidad a estructuras vasculares mayores es, sin duda, una de las limitaciones fundamentales que trasciende el mero efecto sumidero térmico. La conducción térmica a través de la pared vascular puede resultar en alteraciones estructurales que comprometan su integridad, con riesgo potencial de complicaciones hemorrágicas graves. Esta consideración resulta particularmente relevante en el contexto de lesiones perivasculares hepáticas, donde la proximidad a ramas portales o suprahepáticas puede limitar significativamente el margen terapéutico de seguridad. Además del daño térmico, el reposicionamiento del electrodo en lesiones irregulares también puede comprometer la seguridad del procedimiento.

Las lesiones adyacentes a estructuras ductales, particularmente en el contexto perihiliar hepático o pancreático, presentan desafíos técnicos específicos. La susceptibilidad térmica del epitelio ductal puede resultar en procesos estenóticos tardíos, mientras que la lesión térmica directa puede manifestarse en forma de fístulas o deterioro funcional progresivo. La implementación de estrategias de protección ductal, incluyendo la infusión de soluciones refrigeradas o el empleo de sistemas de aislamiento térmico, presenta limitaciones técnicas significativas y eficacia variable.

La proximidad a estructuras neurales críticas constituye una limitación técnica relevante, particularmente en el contexto de lesiones paravertebrales o localizadas en proximidad a troncos nerviosos mayores. La sensibilidad térmica del tejido neural, caracterizada por umbrales de lesión irreversible significativamente inferiores a los establecidos para otros tejidos, requiere la implementación de márgenes de seguridad ampliados que pueden comprometer la eficacia del tratamiento en lesiones anatómicamente complejas.

Las lesiones subdiafrágicas también presentan desafíos técnicos específicos relacionados con el movimiento respiratorio. La excursión diafrágica puede comprometer la precisión en el posicionamiento del electrodo y la estabilidad durante el procedimiento ablativo, requiriendo frecuentemente técnicas de control respiratorio que incrementan la complejidad técnica. Esta limitación resulta particularmente relevante en el abordaje de lesiones hepáticas subcapsulares o adrenales derechas.

En general, el acceso a lesiones profundas, representa un desafío técnico significativo que puede comprometer la eficacia del procedimiento o aumentar el riesgo dañando o lacerando alguna estructura al posicionar el electrodo. La necesidad de trayectorias de acceso extensas puede resultar en desviaciones significativas respecto a la planificación inicial, particularmente en tejidos de consistencia heterogénea. Adicionalmente, la longitud del trayecto puede comprometer la precisión en la transmisión de energía y la distribución térmica efectiva, especialmente en sistemas monopolares.

La proximidad a estructuras óseas introduce limitaciones específicas relacionadas con las características de conducción térmica del tejido óseo y su efecto sobre la distribución energética. La elevada impedancia del tejido óseo puede resultar en distorsiones significativas del campo eléctrico, comprometiendo la homogeneidad de la lesión térmica en tejidos adyacentes.

Las lesiones superficiales, particularmente aquellas con componente exofítico o infiltración cutánea, presentan limitaciones técnicas relacionadas con el riesgo de lesión térmica cutánea y la dificultad para obtener márgenes de tratamiento adecuados. La implementación de sistemas de refrigeración superficial presenta

eficacia limitada en estas localizaciones, requiriendo frecuentemente modificaciones significativas en los protocolos estándar de ablación.

La consideración integrada de estas limitaciones anatómicas resulta fundamental en el proceso de selección de casos y planificación terapéutica. En muchas ocasiones se deben considerar modalidades terapéuticas alternativas cuando se comprometan significativamente la seguridad o eficacia del procedimiento ablativo.

1.1.4.3. Limitaciones relacionadas con la conductividad tisular

Las propiedades dieléctricas y la conductividad tisular representan parámetros fundamentales que condicionan significativamente la eficacia de la RFA, constituyendo un factor limitante crítico. La heterogeneidad en las características conductivas de los diferentes tejidos biológicos introduce variables complejas que afectan tanto a la distribución espacial de la energía como a la eficiencia en la generación térmica (Mulier et al., 2002, Shiozawa et al., 2009).

La conductividad tisular, determinada fundamentalmente por el contenido electrolítico y la estructura molecular del tejido, presenta variaciones significativas entre diferentes tipos histológicos. Los tejidos con elevado contenido en agua y electrolitos, característicamente el tejido muscular y las neoplasias bien vascularizadas, exhiben conductividades eléctricas relativamente elevadas que facilitan la transmisión energética inicial. Sin embargo, esta característica puede resultar paradójicamente limitante debido a la rápida elevación térmica local que puede conducir a fenómenos de desecación y carbonización precoz (Ahmed et al., 2011, Ahmed et al., 2014, Curley et al., 2000, Kim et al., 2010).

El componente fibrótico tisular constituye una limitación técnica particular, caracterizándose por una conductividad eléctrica reducida que compromete significativamente la eficiencia en la transferencia energética. Las lesiones con significativo contenido en colágeno o tejido cicatricial presentan patrones de calentamiento subóptimos, requiriendo frecuentemente modificaciones sustanciales en los protocolos estándares de ablación. Esta limitación resulta particularmente relevante en el contexto de lesiones previamente tratadas o en tejidos sometidos a terapias que inducen fibrosis (Ahmed et al., 2011, Ahmed et al., 2014, Chen et al., 2006, Goldberg et al., 2000, Livraghi et al., 1999).

La variabilidad en la impedancia tisular durante el procedimiento ablativo representa un desafío técnico significativo. El incremento progresivo de la impedancia local, consecuencia de la desecación tisular y la formación de gas, puede resultar en una reducción crítica de la transferencia energética efectiva (Mulier et al., 2002; Lu et al., 2003; Stippel et al., 2004; Nikfarjam et al., 2005). Este fenómeno, particularmente pronunciado en tejidos con elevada conductividad inicial, puede limitar

significativamente el volumen final de ablación alcanzable mediante sistemas convencionales.

Las modificaciones dinámicas en las propiedades dieléctricas tisulares durante el proceso ablativo introducen un nivel adicional de complejidad. La elevación térmica progresiva induce alteraciones estructurales que modifican significativamente las características conductivas del tejido, estableciendo un patrón de retroalimentación que puede resultar en distribuciones térmicas heterogéneas y márgenes de ablación irregulares. La caracterización precisa de estas modificaciones dinámicas resulta técnicamente compleja, limitando la capacidad de implementar estrategias de compensación efectivas. Además, la anisotropía en la conductividad tisular, adquiere especial relevancia en el contexto de lesiones infiltrativas que afectan a múltiples planos tisulares con propiedades conductivas divergentes (Solbiati et al., 2001; Lee et al., 2004b; Chen et al., 2006; Shiozawa et al., 2009; Ahmed et al., 2011; Ahmed et al., 2014).

Los avances tecnológicos orientados a superar estas limitaciones incluyen el desarrollo de sistemas de control de impedancia adaptativos y algoritmos de modulación energética que responden dinámicamente a las modificaciones en las características conductivas tisulares. No obstante, las limitaciones fundamentales derivadas de la heterogeneidad conductiva inherente a los tejidos biológicos persisten como un factor crítico en la optimización de los procedimientos ablativos.

1.1.4.4. Efecto sumidero vascular

El efecto sumidero vascular, también denominado "*heat sink effect*" en la literatura científica internacional, constituye una limitación biofísica fundamental en los procedimientos de RFA, caracterizada por la disipación térmica acelerada en tejidos con elevada perfusión vascular o proximidad a estructuras vasculares significativas. Este fenómeno termodinámico representa un desafío técnico considerable que puede comprometer la eficacia del procedimiento ablativo (Lu et al., 2002).

La magnitud del efecto sumidero vascular se correlaciona directamente con diversos parámetros hemodinámicos y anatómicos cuantificables. El diámetro vascular constituye un factor determinante primario, observándose una relación exponencial entre el calibre del vaso y la capacidad de disipación térmica. Estudios experimentales han demostrado que vasos con diámetros superiores a 3 mm pueden generar gradientes térmicos significativos en el tejido perivascular, comprometiendo la consecución de temperaturas citotóxicas efectivas en estos territorios. La velocidad del flujo sanguíneo representa un segundo parámetro crítico, estableciéndose una correlación lineal entre la velocidad de flujo y la magnitud del efecto sumidero, particularmente relevante en territorios arteriales de alto flujo (Lu et al., 2003; Stippel et al., 2004; Laeseke et al., 2005).

La caracterización termodinámica del efecto sumidero vascular puede modelizarse mediante ecuaciones de transferencia de calor que incorporan términos específicos para la perfusión tisular. La ecuación de biotransferencia de calor de Pennes (1948), anteriormente mencionada y frecuentemente empleada en la modelización de procedimientos ablativos, incorpora un término de perfusión que cuantifica la disipación térmica asociada al flujo sanguíneo: $\rho c (\partial T / \partial t) = \nabla \cdot (k \nabla T) + P - W_b C_b (T - T_b)$, donde W_b representa el término de perfusión sanguínea, factor determinante en la magnitud del efecto sumidero.

Las implicaciones clínicas del efecto sumidero vascular se manifiestan particularmente en determinadas localizaciones anatómicas. En el contexto hepático, la arquitectura vascular dual y la presencia de vasos portales y suprahepáticos de calibre significativo pueden resultar en zonas de ablación incompleta o irregular. Las lesiones perihiliares presentan desafíos específicos debido a la concentración de estructuras vasculares mayores, requiriendo frecuentemente estrategias técnicas adaptadas para compensar el efecto sumidero (Goldberg et al., 1998; Haemmerich et al., 2003).

Las estrategias técnicas desarrolladas para mitigar el efecto sumidero vascular incluyen la implementación de sistemas de ablación de alta potencia que permiten una deposición energética acelerada, aunque esta aproximación presenta limitaciones relacionadas con el riesgo incrementado de carbonización tisular, el empleo de técnicas de oclusión vascular temporal, mediante compresión externa o embolización selectiva, que si bien puede resultar efectiva en determinados contextos, introduce riesgos adicionales y complejidad técnica al procedimiento y la utilización de sistemas de electrodo múltiple con disposición perilesional que permite la creación de gradientes térmicos convergentes, aunque puede resultar técnicamente compleja (Lu et al., 2002; Lee et al., 2004c; Laeseke et al., 2005; Ahmed et al., 2011).

Los avances tecnológicos recientes orientados a la superación del efecto sumidero incluyen el desarrollo de algoritmos de control térmico adaptativos que modulan la deposición energética en función de la respuesta térmica local (Laeseke et al., 2005). Sin embargo, las limitaciones fundamentales derivadas de los principios termodinámicos subyacentes persisten como un factor crítico en la optimización de procedimientos ablativos en territorios altamente vascularizados, teniendo que recurrir en ocasiones a otras modalidades ablativas.

1.1.4.5. Limitaciones en la monitorización en tiempo real

La monitorización en tiempo real durante los procedimientos de RFA constituye un aspecto crítico que presenta limitaciones técnicas significativas, condicionando tanto la precisión en la ejecución del procedimiento como la evaluación inmediata de su eficacia. Estas restricciones técnicas afectan a múltiples aspectos del proceso de monitorización, incluyendo la visualización directa de la lesión ablativa, la

caracterización de los gradientes térmicos y la evaluación de la integridad de estructuras anatómicas adyacentes (Rhim et al., 2001). La ecografía, modalidad frecuentemente empleada por su accesibilidad y capacidad de visualización en tiempo real, se ve significativamente afectada por la formación de artefactos acústicos derivados de la vaporización tisular (Lee et al., 2013; Kim et al., 2015).

La generación de microburbujas durante el proceso ablativo resulta en la formación de una interfaz hiperecogénica que, si bien puede proporcionar una aproximación al volumen tratado, compromete significativamente la discriminación precisa entre tejido efectivamente ablacionado y tejido viable residual en la periferia de la lesión. En la actualidad el uso complementario del Doppler, la elastografía y el contraste consigue mejorar la precisión en la determinación del volumen efectivo ablacionado. La tomografía computarizada, aunque proporciona superior resolución espacial y mejor discriminación anatómica, presenta limitaciones específicas en el contexto de la monitorización en tiempo real. Los sistemas de fluoroscopia CT, si bien permiten la visualización dinámica durante el procedimiento, exhiben restricciones significativas en la caracterización de los cambios tisulares tempranos inducidos por la ablación (Cha et al., 2000). La formación de artefactos por endurecimiento del haz en proximidad al electrodo y las modificaciones en la atenuación tisular asociadas al proceso ablativo pueden comprometer significativamente la interpretación precisa de las imágenes durante el procedimiento.

La monitorización térmica constituye un aspecto particularmente desafiante en los procedimientos de RFA. Los sistemas actuales de termometría, típicamente basados en sensores térmicos integrados en el electrodo o dispositivos de monitorización puntual, proporcionan información limitada sobre la distribución espacial de la temperatura en el volumen tratado (Goldberg et al., 1998; Lu et al., 2002). Esta restricción resulta particularmente relevante considerando la naturaleza tridimensional del proceso ablativo y la importancia crítica de los gradientes térmicos en la determinación de la eficacia del tratamiento.

La caracterización en tiempo real de las modificaciones en la impedancia tisular, aunque proporciona información valiosa sobre la evolución del proceso ablativo, presenta las mismas limitaciones que la termometría en la predicción precisa del volumen de tratamiento efectivo (Hines-Peralta et al., 2004). La correlación entre los cambios en la impedancia y la extensión real de la necrosis térmica puede verse afectada por múltiples variables, incluyendo la heterogeneidad tisular, la perfusión local y las modificaciones dinámicas en las propiedades dieléctricas del tejido durante el procedimiento.

1.1.4.6. Efectos adversos y complicaciones

La RFA, pese a su perfil de seguridad favorable como procedimiento mínimamente invasivo, puede asociarse con un espectro de complicaciones que requieren consideración específica en la práctica clínica.

Las complicaciones hemorrágicas constituyen una de las categorías principales de eventos adversos, manifestándose con una incidencia reportada del 0,5-2.8 % en series amplias. La hemorragia puede producirse tanto en la fase intraprocedimiento, frecuentemente asociada a lesión vascular directa durante el posicionamiento del electrodo, como en el período post-ablación inmediato, relacionada con la fragmentación térmica de estructuras vasculares. Las hemorragias graves, aunque infrecuentes (<1 %), pueden requerir intervención urgente, particularmente en localizaciones anatómicas críticas (Wood et al., 2000; Mulier et al., 2002; Rhim et al., 2004; Kong et al., 2009; Fonseca et al., 2014; Park et al., 2017; Sato et al., 2017; Maeda et al., 2020; Bertolotti et al., 2023; Jo et al., 2023; Kulkarni et al., 2024).

Las complicaciones térmicas representan otra categoría significativa, incluyendo las quemaduras cutáneas en el sitio de la placa dispersiva, con una incidencia del 0,1-0,3 %. Las lesiones térmicas de estructuras anatómicas adyacentes pueden manifestarse como fístulas, estenosis ductales tardías o lesiones neurales permanentes, especialmente en procedimientos que involucran estructuras perivasculares o peribiliares. La implementación sistemática de protocolos de monitorización térmica y el posicionamiento optimizado de las placas dispersivas han contribuido a reducir significativamente su incidencia (Rhim et al., 2004).

Los procesos infecciosos post-ablación emergen como una complicación relevante, con tasas de incidencia que oscilan entre el 0,3-2,5 %. La infección del área necrótica representa el patrón más frecuente, pudiendo evolucionar hacia la formación de abscesos que requieren drenaje percutáneo o intervención quirúrgica. La profilaxis antibiótica selectiva en procedimientos de alto riesgo ha demostrado reducir significativamente esta complicación (Nakagomi et al., 2021).

Las respuestas sistémicas post-ablación, incluyendo el síndrome post-ablación, se caracterizan por manifestaciones como fiebre, malestar general y alteraciones transitorias de la función hepática, afectando aproximadamente al 30-40% de los pacientes sometidos a ablaciones extensas (Kong et al., 2009).

La lesión de estructuras críticas adyacentes constituye una preocupación específica, manifestándose como neuropatías persistentes (0,2-1,8 %), lesiones pleurales con neumotórax subsecuente (0,1-0,4 %) o alteraciones funcionales de órganos próximos al área de tratamiento. La caracterización precisa mediante técnicas de imagen pre-procedimiento y la implementación de estrategias de protección específicas resultan fundamentales en su prevención (Thamtorawat et al., 2022; Tual et al., 2022).

Los efectos adversos tardíos, aunque menos frecuentes, incluyen la estenosis biliar progresiva en ablaciones perihiliares (1,5-3,8 %), la formación de fístulas crónicas (0,1-0,5 %) y alteraciones funcionales persistentes relacionadas con la pérdida de parénquima funcional. La monitorización a largo plazo resulta esencial para la identificación y manejo de estas complicaciones tardías (Lim y Kuo, 2022; Singh et al., 2022; Santalla-Hernandez et al., 2023; Hussein et al., 2024; Issa et al., 2024).

La mortalidad directamente atribuible al procedimiento se mantiene en rangos muy bajos (<0,3 %) en centros con experiencia, aunque puede incrementarse significativamente en pacientes con comorbilidades graves o en procedimientos técnicamente complejos. La selección apropiada de casos y el uso de protocolos estandarizados de manejo peri-procedimiento constituyen elementos críticos en la minimización del riesgo (Curley et al., 2000; Wood et al., 2000; Solbiati et al., 2001; Mulier et al., 2002; Sato et al., 2017).

1.2. Otras terapias ablativas locales

La terapéutica ablativa local en oncología comprende un espectro diversificado de modalidades que, junto con la RFA, constituyen alternativas mínimamente invasivas para el tratamiento de neoplasias. La relevancia de estas en el contexto clínico actual, así como su frecuente mención en la literatura científica en relación con la RFA, justifica un análisis pormenorizado de sus características fundamentales, limitaciones específicas y evidencia clínica disponible. Si bien estas técnicas presentan mecanismos de acción diferenciados, comparten principios fundamentales en cuanto a su aplicación local y objetivo terapéutico de destrucción tisular controlada. La literatura médica frecuentemente aborda estas modalidades de manera interrelacionada, estableciendo análisis comparativos de eficacia, seguridad y aplicabilidad clínica que resultan fundamentales para la optimización de los protocolos terapéuticos en la práctica clínica.

La diversificación tecnológica en este campo ha seguido una progresión sistemática, desde modalidades térmicas fundamentales como la radiofrecuencia y las microondas, basadas en principios electromagnéticos, hasta el desarrollo de técnicas más complejas fundamentadas en mecanismos eléctricos puros o aproximaciones químicas específicas. Esta evolución metodológica refleja la búsqueda continua de procedimientos cada vez más selectivos y eficaces, adaptados a las particularidades tisulares y los requerimientos terapéuticos específicos de cada contexto clínico. La traslación de estas modalidades desde la medicina humana hacia la práctica veterinaria ha seguido un patrón evolutivo característico, inicialmente fundamentado en estudios experimentales que utilizaban modelos animales para la validación de técnicas, hasta el desarrollo actual de protocolos específicamente adaptados a las particularidades anatómicas y fisiológicas de los pacientes veterinarios.

1.2.1. Terapias ablativas térmicas

1.2.1.1. Microondas

La ablación por microondas representa una evolución tecnológica significativa dentro del espectro de las terapias ablativas térmicas, fundamentada en principios físicos distintivos que la diferencian de la RFA. Esta modalidad utiliza radiación electromagnética en el espectro de las microondas (típicamente 915 MHz o 2,45 GHz) para inducir agitación molecular y generación térmica mediante rotación dipolar, en contraste con el mecanismo de agitación iónica característico de la radiofrecuencia (Brace, 2009; Lubner et al., 2010). Esta diferencia fundamental en el mecanismo de acción confiere a la ablación por microondas ventajas teóricas significativas, incluyendo la capacidad de generar volúmenes de ablación más extensos en menor tiempo, menor susceptibilidad al efecto sumidero vascular y la capacidad de mantener temperaturas efectivas en tejidos con impedancia elevada o carbonizados (Yu et al., 2011; Trujillo et al., 2020; Trujillo et al., 2024).

En medicina humana, su aplicación se ha consolidado principalmente en el tratamiento de neoplasias hepáticas, pulmonares y renales, donde las características específicas de la técnica permiten superar algunas limitaciones inherentes a la radiofrecuencia, particularmente en lesiones de mayor tamaño o proximidad a estructuras vasculares significativas (Brace, 2009; Lubner et al., 2010; Yu et al., 2011; Trujillo et al., 2020, 2024). La independencia relativa de la técnica respecto a la impedancia tisular permite mantener la deposición energética efectiva incluso en condiciones de carbonización local, fenómeno que típicamente limita la eficacia de la radiofrecuencia (Yu et al., 2011).

En el contexto veterinario, la implementación de la ablación por microondas ha seguido un patrón de adopción más reciente, con evidencia emergente que sugiere su potencial utilidad en el tratamiento de neoplasias hepáticas, pulmonares, aunque su disponibilidad más limitada y coste superior en comparación con la radiofrecuencia han condicionado parcialmente su generalización (Qiu-Jie et al., 2011; Mazzaccari et al., 2017; Yang et al., 2017; Sayag et al., 2023; Solari et al., 2024).

1.2.1.2. Crioablación

La crioablación constituye una modalidad terapéutica fundamentada en la aplicación localizada de temperaturas extremadamente bajas para inducir la destrucción tisular mediante mecanismos tanto físicos como biológicos. El desarrollo tecnológico de esta técnica ha evolucionado significativamente desde sus primeras aplicaciones en la década de 1960, caracterizándose por la transición desde sistemas basados en nitrógeno líquido hacia tecnologías modernas que utilizan gases presurizados (típicamente argón) en sistemas de ciclo cerrado con mayor precisión en el control térmico. El mecanismo de acción de la crioablación se fundamenta en la formación de cristales de hielo intra y extracelulares, deshidratación celular por gradientes osmóticos, disrupción de

membranas celulares y daño microvascular, procesos que confluyen en la generación de necrosis tisular isquémica (Gage y Baust, 1998). Una característica distintiva de esta modalidad ablativa reside en su capacidad para inducir muerte celular mediante ciclos repetidos de congelación-descongelación, alcanzando temperaturas entre -20 y -40 °C para garantizar la destrucción tisular efectiva (Baust y Gage, 2005).

En medicina humana, la crioablación ha encontrado aplicaciones consolidadas en el tratamiento de neoplasias renales, prostáticas, mamarias y pulmonares, destacando particularmente su perfil favorable de efectos adversos y la capacidad de visualización precisa de la zona de tratamiento mediante técnicas de imagen convencionales (Erinjeri y Clark, 2010).

En el ámbito veterinario, la implementación de la crioablación se ha orientado principalmente hacia el tratamiento de neoplasias cutáneas y subcutáneas, aunque su adopción ha estado parcialmente limitada por consideraciones económicas y la necesidad de equipamiento específico (Ciconelli et al., 1973; Bagley et al., 1976; Harvey, 1980; Malawer et al., 1988; Wheeler et al., 1989; Bouley et al., 2007; De Queiroz et al., 2008; Murphy et al., 2011; Han y Kim, 2022) (Figura 9).

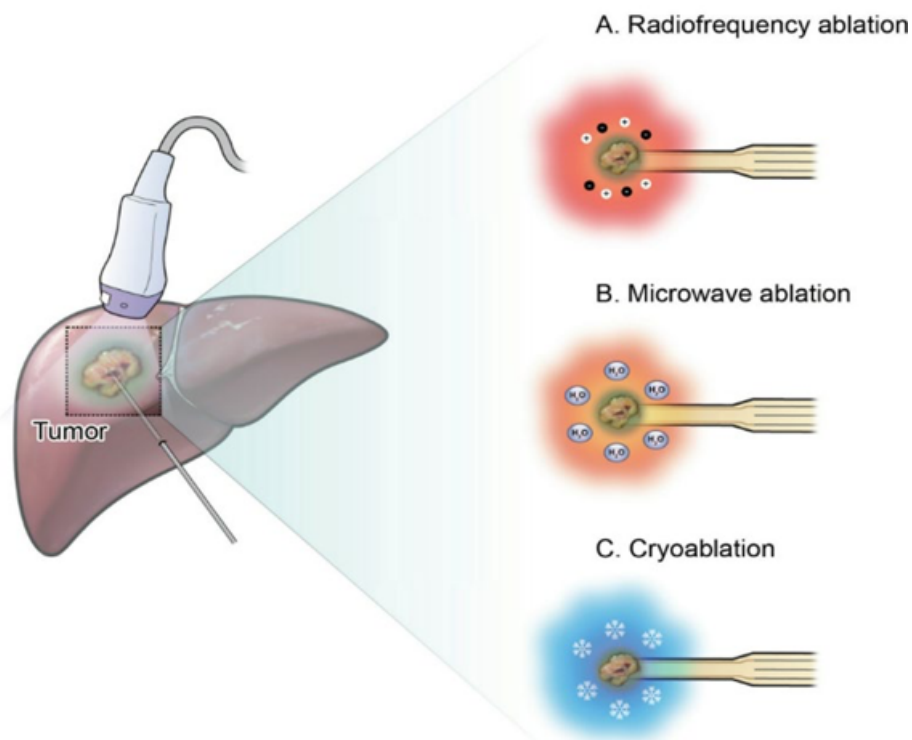


Figura 9. Diferentes técnicas de ablación tumoral local. (A) RFA, el electrodo transmite energía de radiofrecuencia alternante, generando fricción entre las moléculas adyacentes, lo que eleva la temperatura del tejido e induce la necrosis tumoral. (B) Ablación por microondas, la antena emite energía de microondas, incrementando la vibración de las moléculas de agua circundantes, lo que eleva la temperatura y provoca la necrosis tumoral. (C) Crioablación, un gas a alta presión es conducido a través de una sonda, reduciendo la temperatura circundante y favoreciendo la necrosis tumoral (Han et al., 2024)

1.2.1.3. Ultrasonidos focalizados de alta intensidad (HIFU)

Los ultrasonidos focalizados de alta intensidad (*High-Intensity Focused Ultrasound*, HIFU) representan una modalidad ablativa no invasiva que ha experimentado un desarrollo tecnológico significativo desde su concepción inicial en la década de 1940. Esta técnica se fundamenta en la concentración de energía acústica de alta intensidad en un área específica, generando efectos térmicos y mecánicos que conducen a la destrucción tisular localizada. La evolución tecnológica moderna ha permitido el desarrollo de sistemas que integran capacidades de imagen en tiempo real mediante resonancia magnética (MRgFUS) o ecografía (USgFUS), posibilitando la planificación, monitorización y verificación precisa del tratamiento (Haar y Coussios, 2007; Zhang y Wang, 2010; Zhou, 2011). Los mecanismos de acción del HIFU incluyen la generación de temperaturas superiores a 60 °C en el punto focal mediante absorción energética, cavitación acústica y efectos mecánicos directos sobre las estructuras celulares. Una característica distintiva de esta modalidad reside en su capacidad para inducir ablación tisular sin necesidad de inserción de dispositivos, preservando la integridad de los tejidos interpuestos entre el transductor y la zona diana (Kim et al., 2008).

En medicina humana, las aplicaciones clínicas del HIFU se han consolidado principalmente en el tratamiento de fibromas uterinos, adenomiosis, tumores prostáticos y determinadas neoplasias óseas, con evidencia emergente en otras indicaciones oncológicas (Kennedy, 2005).

En el contexto veterinario, la implementación del HIFU ha estado principalmente limitada a estudios experimentales y a sarcomas, donde ha demostrado potencial terapéutico (Ryu et al., 2018; Ruger et al., 2023). Las restricciones en su adopción generalizada en medicina veterinaria derivan principalmente de la significativa inversión tecnológica requerida, la necesidad de equipamiento específico.

1.2.1.4. Electroporación irreversible de alta frecuencia (HiFIRE)

La electroporación irreversible de alta frecuencia (*High Frequency Irreversible Electroporation*, HiFIRE) representa una innovación tecnológica emergente que combina los principios de la electroporación irreversible tradicional con pulsos eléctricos de alta frecuencia, constituyendo una modalidad ablativa híbrida que busca optimizar la destrucción tisular selectiva. Esta técnica, desarrollada inicialmente en la última década, se fundamenta en la aplicación de pulsos eléctricos de alta frecuencia (típicamente en el rango de 100-500 kHz) que inducen la formación de nanoporos permanentes en las membranas celulares, comprometiendo irreversiblemente su integridad estructural y funcional (Arena et al., 2011; Siddiqui et al., 2016; Mercadal et al., 2020; Partridge et al., 2022; Shu et al., 2022).

La característica distintiva de la HiFIRE, en comparación con la electroporación irreversible convencional, reside en su capacidad para minimizar la estimulación

neuromuscular mediante el empleo de frecuencias superiores al umbral de despolarización, reduciendo significativamente la necesidad de bloqueo neuromuscular profundo durante el procedimiento (Shu et al., 2022).

En medicina humana, las aplicaciones clínicas de la HiFIRE se encuentran actualmente en fase de investigación y validación, con estudios preliminares que sugieren su potencial utilidad en el tratamiento de neoplasias pancreáticas, hepáticas y prostáticas, particularmente en contextos donde la preservación de estructuras vasculares y ductales resulta crítica. En el ámbito veterinario, la experiencia con HiFIRE permanece limitada principalmente al contexto experimental, donde se ha empleado como modelo para la validación de parámetros técnicos y la caracterización de respuestas tisulares, aunque su potencial terapéutico en la práctica clínica veterinaria regular permanece en evaluación y ya hay una publicación en un paciente con un carcinoma pulmonar (Hay et al., 2024).

1.2.2. Terapias ablativas eléctricas

1.2.2.1. Electroporación irreversible (IRE)

La electroporación irreversible (IRE) constituye una modalidad ablativa no térmica que ha emergido como una alternativa terapéutica significativa en el tratamiento de neoplasias localizadas. Esta técnica, fundamentada en la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje y corta duración (típicamente 50-100 μ s), induce la formación de defectos nanométricos permanentes en las membranas celulares, comprometiendo irreversiblemente la homeostasis celular y conduciendo a la muerte celular programada (Davalos et al, 2005; Rubinsky et al., 2007; Davalos et al, 2015). El desarrollo tecnológico de la IRE ha evolucionado desde su concepción inicial en el ámbito de la biotecnología hacia su aplicación terapéutica mediante sistemas comerciales que permiten la administración controlada de pulsos eléctricos sincronizados con el ciclo cardíaco.

Una característica distintiva fundamental de esta modalidad reside en su mecanismo de acción no térmica, que permite la preservación de la arquitectura estructural de la matriz extracelular y la integridad de estructuras vasculares y ductales adyacentes, posibilitando su aplicación en localizaciones anatómicas críticas donde las terapias ablativas térmicas convencionales presentan limitaciones significativas (Edd et al., 2006; Deodhar et al., 2011; Monleon et al., 2022; George et al., 2024).

En medicina humana, la IRE ha encontrado aplicaciones consolidadas principalmente en el tratamiento de neoplasias renales, carcinomas hepatobiliares y tumores prostáticos, con evidencia emergente que sugiere su potencial utilidad en otras indicaciones oncológicas donde la preservación de la arquitectura tisular resulta crítica (Tracy et al., 2011, Philips et al., 2013; Walsh et al., 2018; Zhou et al., 2020; George et al., 2024).

En el contexto veterinario, la implementación de la IRE se ha centrado inicialmente en estudios experimentales que han contribuido significativamente a la caracterización de parámetros técnicos y respuestas tisulares, particularmente en localizaciones anatómicas complejas donde las modalidades ablativas convencionales presentan restricciones técnicas o riesgos significativos (Garcia et al., 2011; Thomson et al., 2011, Zhang et al., 2017; Butty et al., 2022; Xing et al., 2024).

1.2.2.2. Electroquimioterapia

La electroquimioterapia (EQT) representa una modalidad terapéutica que combina sinérgicamente el fenómeno de electroporación reversible con la administración sistémica o intratumoral de agentes quimioterápicos, potenciando significativamente su eficacia citotóxica mediante el incremento transitorio de la permeabilidad de la membrana celular. Esta técnica, desarrollada inicialmente en la década de 1980, se fundamenta en la aplicación de pulsos eléctricos de características específicas (típicamente 1000 V/cm, 100 μ s) que inducen la formación temporal de poros nanométricos en las membranas celulares, facilitando la penetración intracelular de fármacos antineoplásicos, particularmente bleomicina y cisplatino, cuya eficacia se ve incrementada entre 100 y 1000 veces mediante este procedimiento (Mali et al., 2013; Gehl et al., 2018).

En medicina veterinaria de pequeños animales, la EQT ha experimentado una adopción significativa, particularmente en el tratamiento de neoplasias cutáneas y subcutáneas en perros y gatos, donde ha demostrado tasas de respuesta completa superiores al 80 % en determinadas indicaciones.

En la especie canina, las aplicaciones principales incluyen el tratamiento de carcinomas de células escamosas, mastocitomas, sarcomas de tejidos blandos y melanomas, con protocolos específicamente adaptados que consideran las particularidades histológicas y el comportamiento biológico de cada tipo tumoral (Cemazar et al., 2008; Kodre et al., 2009; Spugnini y Baldi, 2014; Lowe et al., 2017; Maglietti et al., 2017; Spugnini y Baldi, 2019; Spugnini et al., 2022).

En la especie felina, la técnica ha demostrado particular eficacia en el manejo de carcinomas de células escamosas, especialmente en localizaciones faciales y extremidades distales, así como en sarcomas post-inyección, donde la preservación de tejidos adyacentes resulta crítica (Spugnini et al., 2011, 2015). Las ventajas significativas de la EQT en medicina veterinaria incluyen la posibilidad de realizar procedimientos ambulatorios bajo sedación moderada, la capacidad de repetir tratamientos en caso necesario, la preservación de la funcionalidad tisular y resultados cosméticos favorables, factores que han contribuido a su creciente implementación en la práctica oncológica veterinaria.

1.2.3. Terapias ablativas químicas

1.2.3.1. Esclerosis con etanol

La esclerosis con etanol, también denominada ablación percutánea con etanol (PEI) o etanolización, representa una de las primeras modalidades ablativas implementadas sistemáticamente en la práctica clínica. Esta técnica, fundamentada en la capacidad del etanol para inducir desnaturalización proteica, necrosis coagulativa y trombosis vascular microscópica, fue inicialmente desarrollada en la década de 1980 para el tratamiento de carcinomas hepatocelulares de pequeño tamaño. La evolución de la técnica ha estado caracterizada por la optimización de los protocolos de administración y la expansión de sus indicaciones, particularmente en lesiones hipervasculares donde la difusión del etanol se ve facilitada por las características arquitecturales del tejido.

En medicina humana, su aplicación se ha consolidado principalmente en el tratamiento de carcinomas hepatocelulares en estadios iniciales, nódulos tiroideos y determinadas lesiones endocrinas, donde ha demostrado tasas de respuesta significativas en lesiones seleccionadas de dimensiones reducidas (Livraghi et al., 1986; Shiina et al., 1987; Livraghi et al., 1988; Lencioni et al., 2003; Zuo et al., 2004; Shiina et al., 2005).

En el ámbito veterinario, la técnica ha encontrado aplicación principalmente en el tratamiento de neoplasias hepatocelulares caninas y determinados tumores endocrinos, aunque su implementación ha sido más limitada en comparación con otras modalidades ablativas, fundamentalmente debido a la dificultad en el control preciso de la distribución del agente esclerosante y la variabilidad en la respuesta tisular (Kawano, 1989; Long et al., 1999; Zvara et al., 1999; Rasor et al., 2007; Guttin et al., 2015; Sadler et al., 2016; Rank et al., 2023; Yoon et al., 2023; Furusato et al., 2024).

La integración de técnicas de imagen guiada y el desarrollo de protocolos específicamente adaptados a las particularidades anatómicas y fisiológicas de las diferentes especies han permitido optimizar su aplicación en el contexto veterinario, manteniéndose como una alternativa terapéutica viable en casos seleccionados donde otras modalidades ablativas pueden presentar limitaciones técnicas o contraindicaciones específicas.

1.2.4. Otras terapias ablativas emergentes

Entre las modalidades ablativas con aplicación limitada o emergente en medicina veterinaria, destacan tecnologías innovadoras que, pese a su desarrollo significativo o incipiente implementación en medicina humana, presentan restricciones en su aplicación veterinaria por consideraciones técnicas, económicas o metodológicas específicas.

La **ablación por vapor de agua**, desarrollada inicialmente para el tratamiento de hiperplasia prostática benigna en humanos, representa una modalidad térmica emergente que utiliza la energía calórica del vapor presurizado (100-120 °C) para inducir necrosis tisular controlada mediante transferencia energética convectiva (McVary et al., 2016). Esta tecnología ha demostrado resultados prometedores en estudios preliminares para el tratamiento de neoplasias prostáticas y renales en medicina humana, aunque su aplicación en el ámbito veterinario permanece circunscrita a contextos experimentales que requieren validación adicional.

La **terapia fotodinámica**, fundamentada en la activación lumínica específica de fotosensibilizadores que generan especies reactivas de oxígeno citotóxicas, mantiene aplicaciones consolidadas en oncología humana, particularmente en lesiones superficiales accesibles a la irradiación directa (Agostinis et al., 2011; Wang et al, 2021; Rodrigues y Correia, 2023). Sin embargo, su implementación en medicina veterinaria se ha visto limitada por consideraciones relacionadas con la fotosensibilización prolongada post-tratamiento y los requisitos específicos de protección lumínica, factores que comprometen significativamente su aplicabilidad.

La **ablación por plasma frío atmosférico** representa otra modalidad emergente que utiliza plasma ionizado para inducir efectos citotóxicos selectivos mediante la generación de especies reactivas y campos electromagnéticos localizados (Keidar et al., 2011). Si bien los estudios preliminares en medicina humana sugieren potencial terapéutico significativo, particularmente en lesiones superficiales y aplicaciones dermatológicas, su traslación al ámbito veterinario permanece en fases iniciales de investigación que requieren caracterización adicional de parámetros técnicos específicos y validación de protocolos adaptados.

La **sonodinamia**, modalidad terapéutica que combina ultrasonidos de baja intensidad con agentes sonosensibilizadores específicos, constituye otra aproximación innovadora en desarrollo, aunque su aplicación actual en medicina veterinaria se limita principalmente a protocolos de investigación que exploran su potencial terapéutico en modelos experimentales específicos (McHale et al., 2016).

1.3. Fundamentos inmunológicos

La RFA trasciende significativamente su conceptualización inicial como una modalidad puramente ablativa térmica, constituyendo un procedimiento terapéutico que desencadena una compleja cascada de eventos biológicos con profundas implicaciones inmunológicas (Chu y Dupuy, 2014; Slovak et al., 2017).

La interacción entre los efectos térmicos directos y la subsecuente respuesta inmunitaria del organismo establece un paradigma terapéutico que integra mecanismos

de destrucción tisular inmediata con procesos de inmunomodulación a medio y largo plazo (Chu y Dupuy, 2014; Slovak et al., 2017). La caracterización precisa de esta secuencia de acontecimientos, desde la necrosis coagulativa inicial hasta el desarrollo de respuestas inmunes adaptativas específicas. La muerte celular inducida térmicamente genera la liberación de una amplia gama de señales moleculares (Chen y Nunez, 2010) y celulares que modulan la respuesta inmunitaria, estableciendo un microambiente local que favorece el reconocimiento antigénico y la activación de respuestas inmunes específicas (Chu y Dupuy, 2014; Slovak et al., 2017).

Los procesos de fagocitosis y presentación antigénica constituyen elementos críticos en la transición desde la respuesta inmune innata inicial hacia el desarrollo de inmunidad adaptativa, con potenciales implicaciones sistémicas que van más allá del efecto ablativo local (Kroemer et al., 2013; Galluzzi et al., 2017; Maiorino et al., 2022).

Todos estos mecanismos resultan particularmente relevantes en el contexto oncológico, donde la modulación de la respuesta inmune puede contribuir significativamente a la eficacia terapéutica global y al desarrollo de estrategias de tratamiento combinado (Kepp et al., 2014; Galluzzi et al., 2020).

1.3.1. Procesos de necrosis y muerte celular

La RFA induce una secuencia compleja de eventos biológicos que culminan en la muerte celular a través de diversos mecanismos, cuya predominancia y distribución espacio-temporal vienen determinadas por las características específicas de la deposición energética en el tejido diana (van der Zee, 2002; Ahmed et al., 2011; Haen et al., 2011; Kroemer et al., 2013).

El efecto térmico directo de la radiofrecuencia genera un patrón de lesión tisular característicamente concéntrico, definido por gradientes térmicos específicos que determinan zonas distintivas con perfiles de muerte celular diferenciados (Nikfarjam et al., 2005; Ahmed et al., 2011). La región central, donde se alcanzan temperaturas superiores a 60 °C, experimenta necrosis coagulativa inmediata mediante múltiples mecanismos moleculares que incluyen desnaturalización proteica irreversible, disrupción de membranas celulares y desintegración de orgánulos citoplasmáticos. Este proceso se caracteriza por la agregación molecular aberrante, la pérdida de funcionalidad enzimática y el compromiso grave de la integridad estructural celular, manifestándose histopatológicamente como una zona de necrosis coagulativa con características distintivas de eosinofilia citoplasmática marcada y picnosis nuclear (Goldberg et al., 2005; Nikfarjam et al., 2005; Goldberg et al., 2009; Ahmed et al., 2011, 2014).

La región transicional periférica, sometida a temperaturas entre 42-60 °C, exhibe un perfil de muerte celular más complejo y heterogéneo. En esta zona, la lesión térmica subletal induce la activación de vías apoptóticas mediante la liberación de factores mitocondriales pro-apoptóticos, como el citocromo c, que desencadena la activación

secuencial de caspasas iniciadoras y efectoras (Melero et al., 2015; Galluzzi et al., 2018). Este proceso se acompaña de alteraciones metabólicas significativas, incluyendo el compromiso de la cadena respiratoria mitocondrial y la depleción progresiva de ATP celular, que contribuyen a la expansión temporal de la zona de necrosis durante las primeras 72 h post-ablación (Melero et al., 2015; Galluzzi et al., 2018).

La zona periférica externa, caracterizada por elevaciones térmicas moderadas entre 37-42 °C, presenta alteraciones celulares potencialmente reversibles que, no obstante, pueden evolucionar hacia la muerte celular en función de la duración de la exposición térmica y el estado metabólico tisular basal. En esta región, se observa la activación de respuestas adaptativas al estrés térmico, incluyendo la inducción de proteínas de choque térmico y la modulación de vías de señalización celular específicas, que pueden determinar la supervivencia celular o la progresión hacia la muerte programada (Rylander et al., 2007; Somu et al., 2024).

La evolución temporal de la lesión ablativa sigue una progresión característica que se extiende más allá de los efectos térmicos inmediatos. Durante las primeras seis horas post-ablación, se observan alteraciones ultraestructurales prominentes que incluyen agregación proteica citoplasmática, vacuolización celular progresiva y condensación de la cromatina nuclear (Lee et al., 2004b; Goldberg et al., 2005, 2009; Ahmed et al., 2014). Este período se caracteriza por la liberación masiva de patrones moleculares asociados a daño (*Damage-Associated Molecular Patterns*, DAMP) que inician la cascada inflamatoria y activan las respuestas inmunes innatas locales (Venereau et al., 2015).

La fase temprana, comprendida entre las 6 y 72 h post-ablación, se caracteriza por una infiltración leucocitaria progresiva y la activación de células inflamatorias locales. Este período resulta crítico en la determinación del volumen final de necrosis, ya que los fenómenos inflamatorios y trombóticos microvasculares contribuyen significativamente a la expansión de la zona de lesión mediante mecanismos isquémicos secundarios. La activación de metaloproteinasas y la liberación de mediadores inflamatorios establecen gradientes quimiotácticos que regulan el reclutamiento celular y la progresión de la respuesta inmune (Patterson et al., 1998; Rock et al., 2010).

La fase tardía, que se desarrolla más allá de las 72 h, exhibe procesos de organización tisular caracterizados por el desarrollo de tejido de granulación periférico y el establecimiento de una interfase inflamatoria definida entre tejido viable y no viable. Durante este período, la neoangiogénesis periférica y la deposición de matriz extracelular inician los procesos de reparación tisular, mientras que la presentación antigénica y la activación linfocitaria establecen las bases para el desarrollo de respuestas inmunes adaptativas específicas (Lee et al., 2004b; Goldberg et al., 2005, 2009; Ahmed et al., 2014).

Las características ultraestructurales de la lesión ablativa, evaluadas mediante microscopía electrónica, revelan un espectro de alteraciones que correlacionan con los

gradientes térmicos generados durante el procedimiento. Estas modificaciones incluyen la desorganización progresiva del citoesqueleto, la alteración de dominios de membrana especializados y la disrupción de complejos proteicos estructurales, proporcionando evidencia morfológica de los mecanismos moleculares subyacentes a la muerte celular inducida por radiofrecuencia (Lee et al., 2004b; Goldberg et al., 2005, 2009; Ahmed et al., 2014).

1.3.2. Respuesta inflamatoria y fagocitosis

La lesión térmica inducida por radiofrecuencia desencadena una respuesta inflamatoria compleja y altamente regulada que se caracteriza por la activación secuencial de diversos componentes del sistema inmune innato. Esta cascada de eventos se inicia con la liberación masiva de DAMP desde las células necróticas, moléculas que incluyen ATP extracelular, proteínas de choque térmico HMGB1 (*High Mobility Group Box 1*), ácidos nucleicos citosólicos y otros componentes intracelulares que, en condiciones normales, permanecen compartimentalizados (Chen y Nunez, 2010; Krysko et al., 2012).

La liberación de estos DAMP activa receptores de reconocimiento de patrones (*Pattern Recognition Receptor*, PRR) expresados en células inmunes locales, particularmente macrófagos tisulares y células dendríticas, desencadenando la producción y liberación de mediadores proinflamatorios. Esta fase inicial se caracteriza por la secreción de citoquinas proinflamatorias primarias, incluyendo TNF- α , IL-1 β e IL-6, que establecen gradientes quimiotácticos y promueven la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio vascular (Bianchi, 2007; Takeuchi y Akira, 2010).

La respuesta vascular temprana se caracteriza por vasodilatación local y un incremento significativo en la permeabilidad microvascular, facilitando la extravasación de proteínas plasmáticas y el reclutamiento de células inflamatorias circulantes (McDonald et al., 2010). Los neutrófilos constituyen la primera población leucocitaria en infiltrar el tejido ablacionado, alcanzando números significativos en las primeras 6-12 h post-ablación (McDonald et al., 2010). Estos neutrófilos, además de su capacidad fagocítica, liberan mediadores secundarios incluyendo quimioquinas, proteasas y especies reactivas de oxígeno que amplifican la respuesta inflamatoria inicial (McDonald et al., 2010; Kolaczowska y Kubes, 2013).

La fase fagocítica propiamente dicha se establece con la llegada masiva de monocitos/macrófagos, que comienza aproximadamente 24-48 h post-ablación. Estos fagocitos expresan un amplio repertorio de receptores *scavenger* y otros receptores de reconocimiento que facilitan la identificación y eliminación de células necróticas y detritus tisulares. El proceso de fagocitosis se acompaña de la producción de mediadores lipídicos, incluyendo prostaglandinas y leucotrienos, que modulan la intensidad y duración de la respuesta inflamatoria.

Los macrófagos tisulares experimentan una polarización fenotípica dinámica durante la evolución de la lesión ablativa. Inicialmente predomina un fenotipo proinflamatorio (M1), caracterizado por la producción de citoquinas proinflamatorias y la expresión de enzimas como la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) (Gordon y Taylor, 2005). Posteriormente, la acumulación de señales reguladoras, incluyendo IL-10 y TGF- β , promueve la transición hacia un fenotipo antiinflamatorio/reparador (M2), crítico para la resolución de la inflamación y el inicio de los procesos reparativos (Alonso-Gonzalez y Hidalgo, 2014).

Las células dendríticas locales y reclutadas desempeñan un papel fundamental en el procesamiento y presentación de antígenos liberados durante la ablación (Merad et al., 2013). Estas células experimentan un proceso de maduración en respuesta a las señales inflamatorias locales, caracterizado por la regulación positiva de moléculas co-estimuladoras y la migración hacia los ganglios linfáticos regionales, donde establecen la conexión crítica entre la respuesta inmune innata y adaptativa (Joffre et al., 2009).

La fagocitosis de células necróticas induce la activación de inflamasomas, complejos multiproteicos que regulan el procesamiento y liberación de citoquinas proinflamatorias críticas como IL-1 β e IL-18 (Sica y Mantovani, 2012; Murray et al., 2014). La activación del inflamasoma NLRP3, particularmente relevante en este contexto, contribuye significativamente a la amplificación de la respuesta inflamatoria y la generación de señales de peligro adicionales (Schroder y Tschopp, 2010; Lamkanfi y Dixit, 2014).

El proceso de eliminación de células necróticas se acompaña de la liberación de factores de crecimiento y mediadores que promueven la reparación tisular, incluyendo PDGF, VEGF y diversos miembros de la familia de TGF- β (Werner y Grose, 2003). Estos factores estimulan la proliferación de fibroblastos, la neoangiogénesis y la deposición de matriz extracelular, iniciando la transición hacia la fase reparativa del proceso inflamatorio (Werner y Grose, 2003; Wynn y Vannella, 2016).

La resolución de la inflamación aguda requiere la activación de vías reguladoras específicas que incluyen la producción de mediadores pro-resolutivos como resolvinas, protectinas y maresinas (Serhan y Levy, 2018). Estos mediadores lipídicos especializados promueven la eliminación de neutrófilos apoptóticos, la polarización de macrófagos hacia fenotipos reguladores y la restauración de la homeostasis tisular (Nathan y Ding, 2010; Nathan, 2022,).

1.3.3. Inmunomodulación y respuesta adaptativa

La RFA induce modificaciones significativas en el microambiente inmunológico local que trascienden la mera destrucción tisular térmica, estableciendo las condiciones necesarias para el desarrollo de una respuesta inmune adaptativa específica (Mellman et al., 2011; Palucka y Banchereau, 2012). La liberación masiva de antígenos tumorales, acompañada de señales de peligro endógenas y mediadores inflamatorios, configura un

escenario inmunoestimulador que facilita la activación y expansión de respuestas inmunes específicas contra determinantes antigénicos previamente recluidos en el compartimento intracelular (Mellman et al., 2011).

El procesamiento y presentación de antígenos liberados durante la ablación constituye un evento crítico en la generación de respuestas adaptativas. Las células dendríticas, activadas por señales de peligro asociadas a daño tisular, experimentan un proceso de maduración caracterizado por la regulación positiva de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clases I y II, así como moléculas coestimuladoras incluyendo CD80, CD86 y CD40 (Trombetta y Mellman, 2005; Merad et al., 2013). Esta maduración fenotípica se acompaña de modificaciones funcionales que optimizan su capacidad de procesamiento y presentación antigénica, incluyendo la regulación del pH fagosomal y la activación de vías proteolíticas específicas.

La migración de células dendríticas cargadas con antígenos hacia los ganglios linfáticos regionales establece el nexo crítico entre el sitio de ablación y el compartimento de iniciación de respuestas adaptativas. En el microambiente ganglionar, estas células profesionales presentadoras de antígeno interactúan con linfocitos T naïve, proporcionando las tres señales necesarias para la activación linfocitaria efectiva: presentación antigénica restringida por MHC, señalización coestimuladora y secreción de citoquinas polarizadoras (Alvarez et al., 2008; Chen y Flies, 2013).

La naturaleza de la respuesta adaptativa generada viene determinada significativamente por el contexto inmunológico establecido durante la fase inicial post-ablación. La predominancia de citoquinas como IL-12, IFN- γ y TNF- α favorece la diferenciación de linfocitos T CD4+ hacia fenotipos Th1, asociados con respuestas citotóxicas efectivas (Zhu et al., 2010). Paralelamente, la activación de linfocitos T CD8+ específicos resulta en la expansión de poblaciones citotóxicas capaces de reconocer y eliminar células tumorales que expresen antígenos relacionados (Zhang y Bevan, 2011).

La generación de memoria inmunológica constituye un aspecto particularmente relevante de la respuesta adaptativa post-ablación. La caracterización de poblaciones de linfocitos T de memoria central y efectora específicos contra antígenos tumorales sugiere el establecimiento de una vigilancia inmunológica prolongada, con potenciales implicaciones en la prevención de recurrencias locales y el control de enfermedad metastásica (den Brok et al., 2004; Mueller et al., 2013; Farber et al., 2014; Velez et al., 2016).

El desarrollo de respuestas humorales específicas, evidenciado por la producción de anticuerpos contra antígenos tumorales, complementa la respuesta celular y puede contribuir a la eliminación de células tumorales mediante mecanismos dependientes de anticuerpos como la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) (Nimmerjahn y Ravetch, 2008; Lu et al., 2018).

La modulación del compartimento regulador del sistema inmune representa un aspecto crítico en la determinación de la eficacia de la respuesta adaptativa (Sakaguchi et al., 2008, Josefowicz et al., 2012). La RFA puede alterar el balance entre poblaciones efectoras y reguladoras, particularmente evidenciado por modificaciones en la frecuencia y funcionalidad de linfocitos T reguladores (Tregs) en el microambiente tumoral y circulación periférica (Zerbini et al., 2006, Napoletano et al., 2008, Fietta et al., 2009).

Se han observado además efectos abscopales, caracterizados por respuestas terapéuticas en lesiones tumorales distantes al sitio de ablación, que sugieren la generación de una respuesta inmune sistémica efectiva (den Brok et al., 2004; Velez et al., 2016; Song et al., 2022). Este fenómeno, aunque infrecuente se ha apreciado no solo en RFA, sino también con el uso de la radioterapia o la ablación con microondas y proporciona evidencia directa del potencial inmunomodulador y su capacidad para inducir respuestas adaptativas con relevancia terapéutica sistémica (Formenti y Demaria, 2009; Golden et al., 2013; Liao et al., 2023).

Las implicaciones terapéuticas de estos efectos inmunomoduladores han conducido al desarrollo de estrategias combinadas que buscan potenciar la respuesta inmune adaptativa post-ablación. La integración de inmunoterapias específicas, incluyendo inhibidores de puntos de control inmunitario, puede crear sinergias con los efectos inmunoestimuladores de la ablación, optimizando la generación y mantenimiento de respuestas antitumorales efectivas (Pardoll, 2012; Sharma y Allison, 2015).

1.3.4. Implicaciones terapéuticas

El estudio de los efectos inmunomoduladores de la RFA ha generado un cambio del paradigma en la conceptualización de esta modalidad terapéutica. Pasando de considerarse como una técnica puramente ablativa local hacia su reconocimiento como un procedimiento con potencial inmunoestimulador sistémico. Esta evolución conceptual tiene profundas implicaciones para la optimización de protocolos terapéuticos y el desarrollo de estrategias de tratamiento combinado (Ahmed et al., 2014; Chu y Dupuy, 2014).

La capacidad de la RFA para inducir la liberación de antígenos tumorales en un contexto inmunológicamente favorable proporciona una base racional para su integración con diversas modalidades de inmunoterapia. La combinación con inhibidores de puntos de control inmunitario, particularmente antagonistas de PD-1/PD-L1 y CTLA-4, representa una estrategia terapéutica prometedora fundamentada en la complementariedad de sus mecanismos de acción (Sharma y Allison, 2015). La ablación proporciona el estímulo antigénico inicial y las señales de peligro necesarias para la activación inmune, mientras que la inmunoterapia potencia y sostiene la respuesta adaptativa mediante el bloqueo de vías inhibitorias (Chen y Flies, 2013).

El momento de la intervención ablativa emerge como un factor crítico en la optimización de respuestas inmunológicas. La evidencia experimental sugiere que la realización de procedimientos ablativos en fases tempranas de la enfermedad, cuando la carga tumoral y la inmunosupresión sistémica son menores, puede favorecer el desarrollo de respuestas inmunes efectivas. Asimismo, la secuenciación temporal de ablación e inmunoterapia requiere consideración específica, dado que la administración de agentes inmunomoduladores en ventanas temporales definidas post-ablación podría maximizar su eficacia (den Brok et al., 2004; Melero et al., 2015).

La selección del volumen tumoral a tratar mediante ablación puede influir significativamente en la magnitud y calidad de la respuesta inmune subsecuente. La ablación de lesiones de tamaño intermedio podría proporcionar un equilibrio óptimo entre la carga antigénica liberada y la preservación de tejido tumoral viable necesario para el mantenimiento de respuestas inmunes efectivas. Este concepto ha llevado al desarrollo de estrategias de ablación parcial o secuencial diseñadas específicamente para potenciar efectos inmunológicos (den Brok et al., 2004; Haen et al., 2011; Waitz et al., 2012; Yan et al., 2021).

La potencial sinergia entre RFA y vacunación antitumoral representa otra área de desarrollo terapéutico prometedora (Palucka y Banchereau, 2012). La utilización de la lesión ablativa como fuente de antígenos tumorales *in situ*, complementada con estrategias de vacunación específica, podría mejorar la generación de respuestas inmunes efectivas y memoria inmunológica duradera (Topalian et al., 2016; Seymour et al., 2017; Marabelle et al., 2018).

La integración de técnicas de imagen funcional y biomarcadores moleculares para la monitorización de respuestas inmunes post-ablación representa un área de desarrollo tecnológico crítico. La capacidad para evaluar *in vivo* la activación inmune local y sistémica podría proporcionar información valiosa para la optimización de protocolos terapéuticos y la predicción temprana de respuestas clínicas (Nishino et al., 2010; Weber et al., 2013; Ribas y Wolchok, 2018).

El desarrollo de nuevas tecnologías ablativas diseñadas específicamente para potenciar efectos inmunológicos, incluyendo modificaciones en parámetros técnicos y sistemas de liberación controlada de inmunomoduladores, representa una nueva frontera en la evolución de esta modalidad terapéutica. La optimización de estos aspectos técnicos podría mejorar significativamente la eficacia de estrategias combinadas ablación-inmunoterapia.

3. Objetivos

3.1. Objetivos principales

Los objetivos generales de esta Tesis Doctoral son los siguientes:

1. Evaluar la eficacia terapéutica de la RFA en el tratamiento de neoplasias específicas en medicina veterinaria mediante el análisis cuantitativo de la reducción volumétrica tumoral documentada mediante técnicas de imagen, la modificación de parámetros biológicos y la tasa de respuesta clínica objetiva según criterios estandarizados de evaluación oncológica.
2. Establecer el perfil de seguridad del procedimiento mediante el análisis sistemático de la incidencia, tipología y gravedad de eventos adversos intraprocedimentales, las complicaciones posteriores inmediatas y diferidas, las alteraciones en parámetros fisiológicos y bioquímicos durante el procedimiento, la correlación entre variables técnicas del procedimiento y la aparición de complicaciones.
3. Determinar la aplicabilidad clínica de la técnica mediante la evaluación de los requerimientos técnicos y logísticos para su implementación, la reproducibilidad metodológica del procedimiento, la viabilidad en diferentes contextos clínicos y tipos tumorales, la integración en protocolos terapéuticos multimodales y la relación coste-efectividad en comparación con terapias convencionales.

3.2. Objetivos secundarios

Complementariamente se plantearon los siguientes objetivos específicos:

1. Desarrollar un protocolo estandarizado para la caracterización por imagen de las neoplasias susceptibles de ablación por radiofrecuencia, contemplando los aspectos morfológicos, volumétricos y vasculares relevantes para la planificación terapéutica, así como establecer criterios objetivos para la evaluación sistemática de la respuesta post-ablación mediante técnicas de diagnóstico por imagen.
2. Implementar una metodología sistemática y reproducible para la ejecución técnica del procedimiento ablativo, incluyendo la definición de parámetros operativos específicos según la localización y características tisulares de cada neoplasia, los requerimientos de monitorización intraoperatoria y los criterios de finalización del procedimiento basados en variables cuantificables.
3. Analizar la integración de la RFA en protocolos terapéuticos multimodales, evaluando su aplicación como procedimiento único o en combinación secuencial con otras

modalidades terapéuticas, estableciendo las indicaciones específicas y contraindicaciones relativas según el estadio de la enfermedad, la localización tumoral y las características individuales del paciente.

4. Resultados

4.1. Ablación por radiofrecuencia en tumores nasales

Alfárez MD, Corda A, de Blas I, Gago L, Fernandes T, Rodríguez-Piza I, Balañá B, Pentcheva P, Caruncho J, Barbero-Fernández A, Llinás J, Rivas D, Escudero A, Gómez-Ochoa P. *Computed Tomography-Guided Radiofrequency Ablation of Nasal Carcinomas in Dogs. **Animals*** (Basel), 2024;14(24):3682. doi: 10.3390/ani14243682.

Este estudio prospectivo evalúa la seguridad, viabilidad y resultados terapéuticos de la RFA guiada por tomografía computarizada (TC) en el tratamiento de carcinomas nasales caninos. La investigación se desarrolló entre 2019 y 2024, incluyendo 15 perros con diagnóstico histopatológico confirmado de carcinoma nasal subtipo adenocarcinoma. Los pacientes fueron estadiados mediante TC según el sistema Adams modificado, distribuyéndose en: 3 casos en estadio D2 (tumor confinado a una cavidad nasal con afectación ósea), 7 en estadio D3 (invasión orbital o masa subcutánea/submucosa), y 5 en estadio D4 (extensión a placa cribiforme).

Los procedimientos se realizaron bajo anestesia general empleando un electrodo LeVeen con configuración en paraguas, cuyo diámetro se seleccionó según las dimensiones tumorales visualizadas en TC. El protocolo de ablación siguió un algoritmo de incremento progresivo de potencia hasta alcanzar el punto de roll-off, indicativo de necrosis tisular completa. La monitorización intraoperatoria incluyó parámetros hemodinámicos, respiratorios y la documentación secuencial mediante TC de los cambios morfológicos inducidos por la ablación.

La evaluación de la respuesta terapéutica se realizó mediante TC volumétrica a las seis semanas post-intervención, documentando una reducción tumoral media del 82,8 % (rango 74,4-91,0 %). Se observó una mejora significativa en los signos clínicos, incluyendo la resolución de la descarga nasal (presente en el 100 % pre-intervención), epistaxis (87 %) y dificultad respiratoria (47 %). La evaluación de los senos frontales afectados (n=13) mostró una mejoría en todos los casos, con ocupación parcial residual en 8 pacientes (61 %) y resolución completa en uno (8 %).

No se registraron complicaciones significativas durante el procedimiento ni en el período post-intervención inmediato. El seguimiento a largo plazo (>12 meses) se realizó en 7 perros (3 estadio D2, 4 estadio D3), de los cuales 3 no requirieron intervenciones adicionales, 3 precisaron una segunda ablación a los 8-13 meses por recurrencia local, y uno requirió cirugía en el plano nasal externo.

Los resultados sugieren que la RFA guiada por TC constituye una alternativa terapéutica viable y segura para el tratamiento de carcinomas nasales caninos, especialmente en

casos donde la radioterapia o la cirugía convencional no son aplicables. La significativa reducción volumétrica tumoral y la mejoría clínica observada justifican su consideración como opción terapéutica en el algoritmo de tratamiento de estas neoplasias.

Article

Computed Tomography-Guided Radiofrequency Ablation of Nasal Carcinomas in Dogs

María Dolores Alférez ¹, Andrea Corda ^{2,*}, Ignacio de Blas ³, Lucas Gago ⁴, Telmo Fernandes ⁵, Ignacio Rodríguez-Piza ⁶, Beatriz Balaña ⁷, Plamena Pentcheva ², Javier Caruncho ⁸, Alicia Barbero-Fernández ⁹, Jorge Llinás ¹⁰, David Rivas ⁷, Amaia Escudero ⁷ and Pablo Gómez-Ochoa ^{1,3}

¹ VetCorner Unavets, 50012 Zaragoza, Spain; lolalferez77@gmail.com (M.D.A.); pablogomezchoa@gmail.com (P.G.-O.)

² Department of Veterinary Medicine, University of Sassari, 07100 Sassari, Italy; plamena.pentcheva@gmail.com

³ Department of Animal Pathology, University of Zaragoza, 50013 Zaragoza, Spain; debias@unizar.es

⁴ Department of Mathematics and Computer Science, University of Barcelona, 08007 Barcelona, Spain; lgagogag69@alumnes.ub.edu

⁵ Imaginologia Veterinaria do Porto, 4490-479 Porto, Portugal; insidevetecografia@gmail.com

⁶ Anicura Glòries Hospital Veterinari, 08010 Barcelona, Spain; ignasi.rodriguez@anicura.es

⁷ Hospital Anicura Aralar Veterinarios, 50410 Zaragoza, Spain; bboncovet@gmail.com (B.B.); david.rivas@anicura.es (D.R.); amaia.escudero@anicura.es (A.E.)

⁸ Arealonga Veterinary Clinic, 15190 A Coruña, Spain; javicaruncho@gmail.com

⁹ Department of Diagnostic Imaging, European University, 28670 Madrid, Spain; alicia.barbero.vet@gmail.com

¹⁰ Hospital Anicura Valencia Sur, 46460 Valencia, Spain; jorgellinasformacion@gmail.com

* Correspondence: acorda1@uniss.it; Tel.: +39-349-4381468



Citation: Alférez, M.D.; Corda, A.; de Blas, I.; Gago, L.; Fernandes, T.; Rodríguez-Piza, I.; Balaña, B.; Pentcheva, P.; Caruncho, J.; Barbero-Fernández, A.; et al. Computed Tomography-Guided Radiofrequency Ablation of Nasal Carcinomas in Dogs. *Animals* **2024**, *14*, 3682. <https://doi.org/10.3390/ani14243682>

Academic Editor: Lysimachos G. Papazoglou

Received: 26 November 2024

Revised: 14 December 2024

Accepted: 18 December 2024

Published: 20 December 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Simple Summary: Nasal carcinomas in dogs are aggressive tumors that are challenging to treat due to their location. This study investigates the use of radiofrequency ablation (RFA), a minimally invasive technique, to manage these tumors. Fifteen dogs were treated, and the results showed a significant reduction in tumor size and improvement in clinical signs like nasal discharge and breathing difficulties. The procedure was safe, with no major complications, and follow-up imaging confirmed its effectiveness. RFA can be considered a viable alternative treatment for nasal carcinoma in dogs when radiation therapy or surgery is not possible.

Abstract: Nasal carcinomas in dogs are locally invasive neoplasms with a low metastatic rate that pose significant treatment challenges due to their location and aggressiveness. This study evaluates the safety, feasibility, and therapeutic outcomes of computed tomography-guided radiofrequency ablation (CT-guided RFA) in 15 dogs diagnosed with nasal adenocarcinoma. All patients underwent staging and histopathological diagnosis before treatment. CT-guided RFA achieved a significant tumor volume reduction (82.8%) and improvement in clinical signs such as nasal discharge, epistaxis, and respiratory distress, without complications. Post-RFA CT examinations demonstrated a significant decrease in Hounsfield units and tumor volume. This study has shown that CT-guided RFA is an effective cytoreductive option for minimally invasive management of nasal adenocarcinomas in dogs, particularly when traditional therapies like radiation therapy or surgery are not feasible.

Keywords: nasal carcinoma; diagnostic imaging; cancer therapy; thermoablation; radiofrequency ablation; canine; minimally invasive therapy; veterinary oncology; CT-guided procedure

1. Introduction

Canine nasal tumors are characterized by their locally aggressive nature and relatively low metastatic rate, estimated to be between 10% and 40%, depending on the type of neoplasm and disease progression [1–4]. Although the incidence of primary intranasal tumors in dogs is low, accounting for approximately 1–2% of all canine neoplasms, they present a significant challenge in veterinary oncology due to their location, invasiveness,

and high recurrence rate, which exceeds 60% in most cases [5–8]. Carcinomas are the most prevalent type of intranasal tumors, comprising about two-thirds of all cases, with adenocarcinomas and squamous cell carcinomas being the most frequently observed [2,6,9]. These tumors are predominantly seen in middle-aged to older dogs, particularly in dolichocephalic and mesocephalic breeds, and are more common in males [6,10]. Despite the low metastatic rate at diagnosis, metastases to regional lymph nodes and lungs are often present at the time of death in 40–50% of cases [1,3,10]. Clinical manifestations of nasal tumors include epistaxis, mucopurulent nasal discharge, facial deformity, and respiratory distress. These signs commonly appear once the tumor has locally infiltrated adjacent tissues [7,11]. Given the challenges of controlling tumor growth and the poor prognosis associated with advanced nasal carcinoma, treatments remain focused on local disease control. However, effective options are limited once the tumor progresses [8,12].

Radiation therapy (RT) is considered the treatment of choice for nasal tumors in dogs, regardless of the clinical stage or the histologic type of the tumor [8,10,13]. It has demonstrated superior outcomes and prolonged survival compared to other treatments, with reported median survival times ranging from 7.4 to 47.7 months depending on the protocol and tumor type [8–10,13]. Despite its effectiveness, local progression is common, occurring in approximately 60% of dogs treated with RT [7,9]. Acute side effects of RT, such as rhinitis, oronasal fistulas, dental pulp necrosis, and ocular complications (including keratoconjunctivitis and corneal ulcers), are frequently observed [1,7,13]. Delayed side effects and more severe complications, such as osteonecrosis and neurological toxicity, have been reported, particularly in cases that required re-irradiation, and are usually dosage-dependent [2,12,14]. Additionally, the high cost, the need for repetitive anesthesia, and the limited availability of specialized facilities make RT inaccessible for a significant number of patients [1,14]. While some dogs respond to re-irradiation following tumor recurrence, concerns about toxicity and the risk of complications often limit its use [12–14]. Nonetheless, RT remains the most effective treatment for controlling local disease in nasal tumors [6,10].

Surgical intervention, such as rhinotomy, is often considered a more accessible option compared to RT for the treatment of nasal tumors in dogs [15]. Surgery is highly invasive and frequently associated with significant morbidity, including acute and chronic complications such as infections and osteonecrosis [1,11]. Although ventral rhinotomy may achieve acceptable survival outcomes, the high risk of postoperative complications limits its use as a first-line treatment [16,17].

Toceranib phosphate, an antiangiogenic drug, has demonstrated effectiveness in reducing clinical signs in dogs with nasal carcinomas, offering a potential therapeutic alternative when RT is unavailable or declined by the owners [3,7,18]. Protocols using toceranib, while not curative, can be a viable palliative care option [3]. Additionally, chemotherapy protocols [19,20], and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), such as piroxicam and firocoxib, have been investigated for their potential anti-tumor effects. However, studies show limited survival benefits when used alone [9,10].

Electrochemotherapy (ECT) offers a minimally invasive alternative for treating nasal tumors, offering palliation to those with limited life expectancy or poor clinical condition. It can also serve as a cytoreductive approach to facilitate surgery without excluding other treatments [11]. Other minimally invasive options include nasal hydropulsion, which has been employed as a palliative approach, providing temporary relief from nasal obstruction in some patients [1]; cryoablation, to manage recurrent tumors [5]; and photodynamic therapy (PDT) [21], which has shown efficacy in prolonging survival in dogs with recurrent intranasal carcinomas following RT [2]. However, PDT remains limited by its high cost and the need for specialized equipment [2]. Similarly, CO₂ laser surgery offers precise dissection and excellent hemostasis, but its applicability may be constrained by the size and location of the tumor [6].

Radiofrequency ablation (RFA) is a minimally invasive technique that uses thermal energy, generated by high-frequency alternating current, to induce coagulative necrosis in

targeted tissues while preserving the surrounding structures [22–24]. In human medicine, RFA has been applied successfully to different tumors [25–38]. In sinonasal tumors, RFA has been shown to effectively control tumor growth [39,40]. In contrast, in veterinary medicine, while RFA and other ablation techniques have been explored as therapeutic options for other tumor types [41–56], their application in canine nasal tumors remains uninvestigated. CT-guided RFA allows precise tumor localization, minimizes the risk of damage to adjacent structures, and facilitates better control of tumor margins [57,58]. In humans, advancements in sinonasal oncologic surgery have included endoscopic transnasal RFA, which has been effective in managing sinonasal and skull base malignancies, providing optimal control of bleeding and minimal thermal damage to neural structures, such as the dura mater [59]. Furthermore, other ablative technologies, including microwave [60], low-temperature plasma radiofrequency [61–65], and coablation [59,66–69], have been explored in sinonasal tumor treatment, offering improved precision and reduced thermal damage. The use of High-Frequency Irreversible Electroporation (H-FIRE) has also demonstrated the potential to induce immunogenic cell death, stimulating an anti-tumor immune response and offering additional benefits beyond local ablation of the tumor [40].

The objective of this study was to evaluate the safety and feasibility of CT-guided RFA in treating nasal carcinomas, as well as to assess the volumetric reduction achieved with this technique in dogs.

2. Materials and Methods

Dogs with nasal masses of any size and location, whose owners had declined RT, were recruited prospectively at VetCorner (Zaragoza, Spain) from 2019 to 2024. A histologically diagnosis of nasal carcinoma, specifically the adenocarcinoma subtype, was the primary inclusion criterion. Only dogs with complete staging and histological reports reviewed and confirmed by a board-certified pathologist were included in the study. All owners signed an informed consent form before their dogs underwent the procedure described below. Previous surgeries, lesion locations, and disease stages were also documented. The clinical workup for all dogs included a complete physical examination, blood collection, chest X-rays, and a CT scan of head, neck and thorax.

Computed tomography scans were performed using a 64-slice GE LightSpeed VCT (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK). Pre- and post-contrast CT scans were acquired before the procedure (T0), and 6 weeks after the CT-guided RFA (T2). Additionally, a post-contrast CT scan was performed immediately after RFA (T1). Post-contrast series were performed following intravenous administration of 2 mL/kg of an iodinated non-ionic contrast agent (Omnipaque 300 mgI/mL solution for injection, Iohexol, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) using manual injection. Based on the T0 CT findings, tumors were staged according to the Adams modified system [4]. The patients were classified as D1, tumor confined to 1 nasal passage, paranasal sinus, or frontal sinus with no bony involvement; D2, tumor with bony involvement, including bilateral nasal passage involvement, but with no evidence of an orbital, subcutaneous, or submucosal mass; D3, tumor with involvement of the orbit or a subcutaneous or submucosal mass; and D4, tumor with extension into the cribriform plate. Mandibular and retropharyngeal lymph nodes were evaluated on CT images and considered enlarged if the maximum width was >10 mm or >20 mm, respectively [13]. All the volume measurements, obtained at T0, T1, and T2, were performed by a single experienced operator (A.B.-F.). A free, open-source DICOM viewer software was used to review the images (Horos, version 3.0, Horosproject.org, Nimble Co 119 LLC d/b/a Purview, Annapolis, MD, USA). The nasal tumor volumes were measured using the appropriate function in Horos and expressed in cm³ [8], in both pre- and post-RFA CT images (Figure 1). Nasal fluid and nasal discharge were not included in the volume measurements. The difference in contrast enhancement, measured in Hounsfield units (HU), facilitated the differentiation between the solid, contrast-enhancing mass and the non-enhancing fluid.

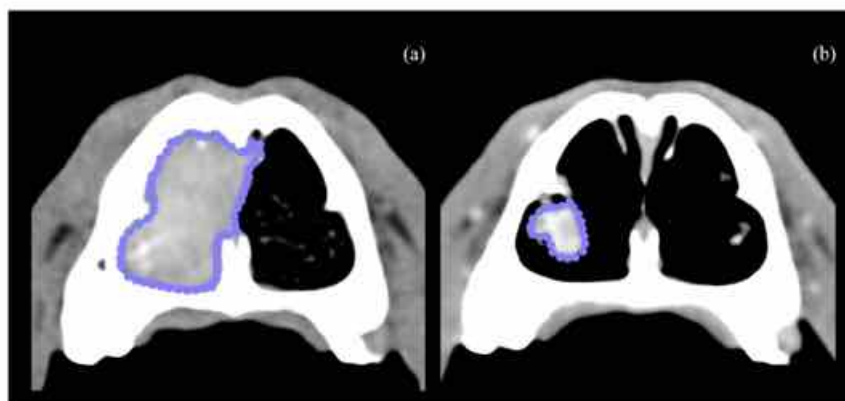


Figure 1. Closed polygon region of interest measured at T0 axial CT scan (a). CT scan from the same patient at T2 (b).

The CT-guided RFA procedure was performed under general anesthesia with the dog placed in sternal recumbence after data acquisition. All dogs were premedicated with intravenous methadone 0.2 mg/kg (Semfortan, Dechra, Northwich, UK) and diazepam 0.25 mg/kg (Ziapam, Ecuphar, Barcelona, Spain). Induction was carried out with intravenous propofol, and maintenance was performed with inhalant isoflurane. Capnography, pulse oximetry, indirect arterial blood pressure, body temperature and electrocardiogram were monitored before, during the procedure and after the thermal ablation was completed. Thermoablation was performed with an RF 3000 Radiofrequency Generator (Boston Scientific, Marlborough, MA, USA) with a LeVeen Needle Electrode (Boston Scientific, Marlborough, MA, USA), using an umbrella-like deployment configuration. The choice of electrode was based on the maximum diameter of the tumor in the cross-sectional view along the longitudinal axis of the nasal cavity. Two types of electrodes, with maximum diameters of 2 cm and 3 cm, were utilized. The 2 cm electrode was selected when the transverse diameter of the nasal cavity did not exceed 2 cm, while the 3 cm electrode was used for patients with a larger transverse diameter. Once positioned, ten atraumatic umbrella-like tines were deployed, creating a spherical ablation volume (Figure 2).

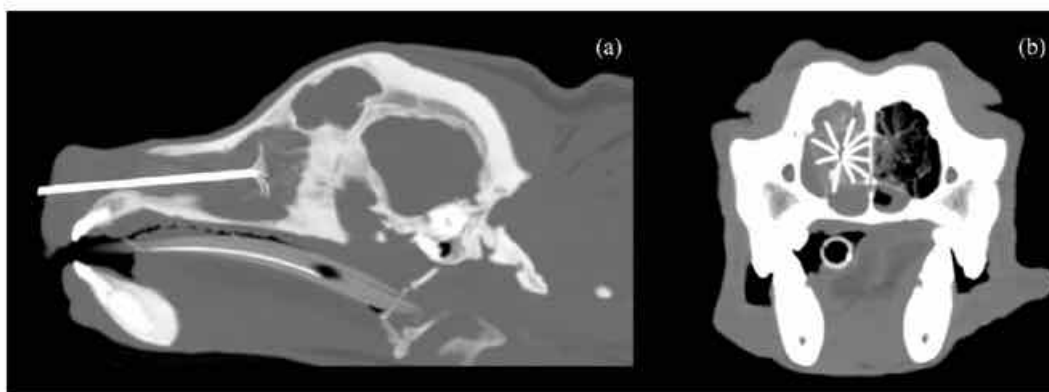


Figure 2. CT scan image with MIP (Maximum Intensity Projection), 7 mm thickness, in sagittal (a) and transverse (b) planes, showing the nasal carcinoma with the 2 cm LeVeen electrode fully deployed inside.

In all cases, the electrode was initially placed at the point furthest from the nasal plane, ensuring a safety margin of at least 2 mm between the maximum diameter of the electrode and the cribriform plate, under CT guidance. At this point the monopolar radiofrequency electrode was activated, transferring electrical current from the tines to the surrounding tissue, leading to coagulation necrosis of the neoplastic tissue [23,70–72]. To disperse the energy produced, four adhesive electrosurgical grounding pads (3M, Saint Paul, MN, USA) were attached to the dorsal region of each hemithorax, providing a safe return path for electrosurgical currents [22]. The study protocol involved creating several ablation spheres that covered the full extent of the lesions, as the size of the tumors exceeded the diameter of the RFA needle. Once the thermal sphere was completed, the device was retracted and repositioned using the centimeter scale on the electrode. It was withdrawn from the nasal cavity by a distance equivalent to the radius used, thereby overlapping the ablation spheres. Before reactivating the radiofrequency generator for each ablation sphere, the position was verified using CT imaging. This process was repeated until the entire tumor volume was covered.

The time and power of electromagnetic energy exposure were set according to the manufacturer's recommendations. A power algorithm starting at 10 W and gradually increasing each minute up to a maximum of 60 W was employed. Once the maximum power was reached, it was maintained until the roll-off point was achieved, characterized by an increase in impedance, as measured by the generator, which directly correlates with tissue desiccation and necrosis. At this point, the thermal ablation was deemed complete. The maximum necrosis volume was created without damaging the surrounding tissues [71]. Upon completing the procedure, the electrode was removed, and a contrast-enhanced CT scan was then performed to record the HU in the mass (T1).

The dogs were hospitalized and monitored for two hours before being discharged. After each CT-guided RFA procedure, the patients were discharged with anti-inflammatory (prednisolone 0.5 mg/kg, twice a day, orally for one week, followed by 0.25 mg/kg, twice a day, orally for five days) and antibiotic medication (amoxicillin 12.5 mg/kg, twice a day, orally for one week). Moreover, to reduce fibrinolytic activation and minimize the perioperative bleeding risk, one week before and three days after the procedure, all the dogs underwent treatment with an oral fibrinolysis inhibitor (tranexamic acid 10 mg/kg twice a day) [73–75]. Clinical and CT scan follow-up examinations were conducted 6 weeks after the procedure (T2).

Statistical Analysis

The statistical description of qualitative variables was carried out with absolute and relative frequencies, and in the case of quantitative variables, were described with mean, standard deviation (SD), minimum, maximum, and quartiles. Contingency tables were calculated to assess the association between two qualitative variables, with the Likelihood Ratio test. Association between two paired variables (pre- vs. post-RFA) was assessed with the Wilcoxon test (which was selected after checking the normality of both variables with the Shapiro–Wilk test). Statistical analysis was performed with IBM SPSS 26.0 and alpha error was established in 0.05.

3. Results

From 2019 to 2024, 15 dogs with a histologic diagnosis of nasal carcinoma, subtype adenocarcinoma, underwent CT-guided RFA. In all cases, RT was considered prior to RFA but was declined due to economic constraints.

The included dog breeds were four (26.7%) mixed-breed, three (20%) Labrador Retrievers, three (20%) Golden Retrievers, two (13.3%) German Shepherds, one (6.7%) Pitbull, one (6.7%) Basque Shepherd, and one (6.7%) Podenco. The mean (\pm SD) age was 10.8 (\pm 2.2) years, with a minimum of 6 and a maximum of 15 years. Among the dogs, 11 (73%) were male (2 intact, 9 neutered), and 4 (27%) were female (1 intact, 3 neutered).

The most frequent presenting clinical sign was nasal discharge (100%), with epistaxis observed in 13 (87%) and respiratory distress in 7 (47%) cases. In three (20%) dogs, facial deformity was present due to tumor extension into subcutaneous tissue. Several dogs received concomitant therapies: five (33%) with firocoxib, and seven (47%) with a combination of toceranib phosphate and firocoxib. NSAIDs were discontinued three days before RFA treatment and reintroduced following post-RFA corticosteroid therapy.

At T0, all patients presented with a locally destructive, attenuating, contrast-enhancing soft-tissue mass involving the turbinates on the CT scan. Evidence of nasal septum destruction was present in eight (53%) cases. Orbital involvement was observed in seven (47%) dogs, while lysis of the nasal bone accompanied by a subcutaneous mass was noted in three (20%) dogs. Extension into the cribriform plate was identified in five (33%) dogs, two (40%) of which also exhibited extension into the nasopharynx. Complete opacification of the frontal sinus, with mucous density material, was noted in 13 (87%) dogs, with total occupation in 9 (69%) cases and partial occupation in 4 (31%). No enlargement of the mandibular or retropharyngeal lymph nodes or evidence of pulmonary metastases was observed in any patient at T0.

In three (20%) dogs, nasal carcinoma was classified as stage D2; in seven (47%), as stage D3; and in five (33%), as stage D4. Three (20%) stage D4 dogs had previously undergone rhinotomy with nasal exenteration.

No significant complications were encountered during the CT-guided RFA. No significant changes were observed in capnography, pulse oximetry, indirect arterial blood pressure, body temperature, or ECG readings during the procedure, and no relevant bleeding was reported. Minor bleeding occurred during electrode insertion; however, it ceased once radiofrequency activation began. No epistaxis was reported in the perioperative period. All patients were treated as outpatients and discharged within two hours after T1.

In the post-contrast series performed at T1, an attenuation in the thermosphere areas measured in HU was documented, showing a statistically significant decrease from a mean \pm SD of 98.2 ± 6.6 HU before the procedure to 60.0 ± 9.4 HU afterward ($p = 0.001$) (Table 1).

Table 1. Hounsfield units at T0 and T1; percentage of attenuation reduction; and tumor volume at T0 and T2.

Variable	Time	Mean	SD	min	Q1	Q2	Q3	Max	<i>p</i> -Value ^w
HU	T0	98.2	6.6	87	95	98	101.5	110	0.001
	T1	60.9	9.4	50	52.5	61	67.5	78	
Attenuation reduction (%)		37.6	11.1	11.4	32.4	38	46.1	51.8	
Volume (cm ³)	T0	25.2	11.1	12.3	17.0	19.5	35.7	43.8	0.001
	T2	4.4	2.7	2.2	2.6	3.2	4.8	11.2	
Volume reduction (%)		82.8	4.5	74.4	81.5	83.1	84.7	9.1	

HU, Hounsfield units; T0, CT scan before RFA; T1, CT scan immediately after RFA; T2, CT scan 6 weeks after RFA; ^w, statistical significance according to Wilcoxon test.

At T2, all the patients showed resolution of initial clinical signs (nasal discharge, epistaxis, and respiratory distress) and a reduction in facial deformity. Moreover, at T2, a significant decrease in tumor volume was achieved, with an average diminution from a mean \pm SD of 25.2 ± 11.1 cm³ to 4.4 ± 2.75 cm³ ($p = 0.001$), representing an 82.8% reduction (Table 1, Figure 3). The follow-up evaluation of the 13 dogs with frontal sinus opacification demonstrated improvement in all cases. None of these patients exhibited complete sinus occupation: eight (61%) had partial occupation, and one (8%) showed no residual opacification. Furthermore, three (23%) of the four dogs with partial frontal sinus involvement detected at T0 were found to have a normal sinus appearance on CT imaging

at T2. No enlargement of the mandibular or retropharyngeal lymph nodes or evidence of pulmonary metastases was observed in any patient at T2.

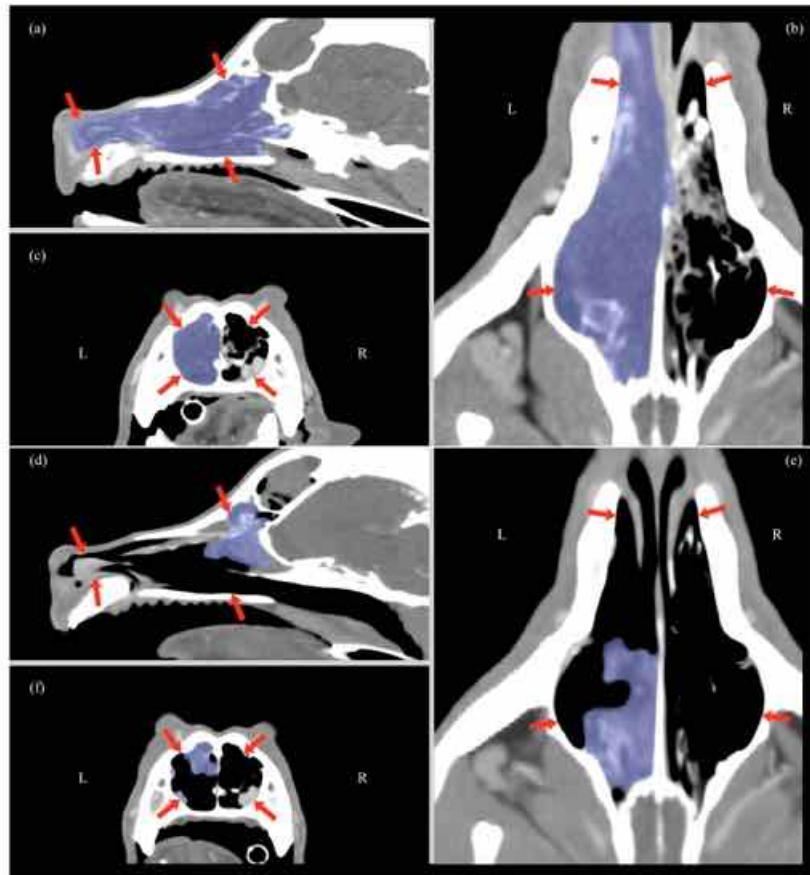


Figure 3. Multiplanar CT scan reconstruction at T0 (a–c) and at T2 (d–f), showing sagittal (a,d), transverse (c,f), and dorsal views (b,e). Overlain in light blue is the nasal carcinoma, a soft-tissue mass involving the turbinates. The nasal cavity is delineated by red arrows in all views.

Seven dogs (3 stage D2 and 4 stage D3) came for follow-up visits for over a year. Of these patients, three did not undergo any additional procedures within 12 months, three underwent a second CT-guided RFA at 8 and 13 months, respectively, and one underwent surgery for a growth on the external area of the nasal planum.

4. Discussion

The main result of this study was that CT-guided RFA in canine nasal carcinomas led to a notable improvement in clinical signs and achieved a significant reduction in tumor volume, highlighting its potential as a viable treatment option for nasal tumors in dogs.

Canine nasal carcinomas are locally invasive malignancies characterized by a low rate of metastasis [9,76–78]. Cytoreductive local control is currently the cornerstone in the management of these patients. Radiation therapy is considered the treatment of choice; however, it has significant limitations, including the high cost, the need for repeated anesthesia, and limited availability [7,8,12–14,40,78]. Furthermore, this modality has been

associated with the development of acute and delayed adverse effects such as rhinitis, oronasal fistula formation, pulp necrosis, and varying degrees of ocular, cutaneous, and neurological toxicity [7,8,12–14,40,78]. In addition, repeated radiation exposure can increase the risk of serious complications, including osteonecrosis and ocular damage [12,14,77]. Surgical exenteration (via rhinotomy) is also a viable option, though it is equally expensive and often associated with a higher incidence of postoperative complications, such as infections and osteonecrosis. Consequently, the high morbidity rate limits its use [1]. Ongoing research on this disease aims to identify therapeutic approaches that can enhance outcomes without compromising the safety profile of the treatments [39].

Radiofrequency ablation is a minimally invasive procedure widely used in human medicine to treat various types of tumors, including multiple sinonasal neoplasms [22–24]. This technique offers the advantage of reducing tumor size while minimizing damage to surrounding tissues [39,57,58]. In this study, RFA achieved a significant (82.8%) tumor volume reduction. A retrospective study indicates that a nasal exenteration may be indicated if, following a course of RT, tumor volume regression assessed via CT is less than 80% [16]. In our study, the results demonstrate a tumor volume reduction exceeding this 80% threshold. For instance, Morgan et al. (2018) reported a 67.1% decrease in tumor volume for canine nasal carcinomas [8], while Bommarito et al. (2011) demonstrated a median volume regression of 85.6% after the first course of RT [12]. These findings suggest that RFA offers a comparable initial degree of tumor control to RT. The improvement in mucous material occupancy within the frontal sinus further highlights the significant degree of tumor volume reduction. It is likely that the clearance of the sinus also contributed substantially to the clinical improvement observed in the patients.

Although complete necrosis typically occurs within 7 to 10 days following the procedure [22], it is established that maximum tumor volume reduction occurs between 4 and 8 weeks after RFA [22,79]. Therefore, the follow-up visit, and CT scan were scheduled 6 weeks after the procedure. The decrease in HU immediately after the RFA (T1) demonstrates the effect of radiofrequency on contrast uptake within the thermosphere. This tissue necrosis, accompanied by vascular destruction, is the primary factor responsible for cellular death. Post-contrast CT is particularly useful for identifying large blood vessels that could dissipate heat and reduce the effectiveness of the thermosphere. Additionally, the decrease in HU serves to evaluate whether the planned volume in the ballistic targeting of the mass has been successfully achieved. In areas near large vessels, greater overlapping of spheres can be planned to enhance the likelihood of achieving necrosis. However, RFA is a local treatment with inherent limitations. Tumor regions that are difficult to access with the electrode may persist and continue to progress. Moreover, the presence of large vessels proximal to the thermosphere can diminish the efficacy of the treatment due to the “heat sink effect” [22]. This contrasts with RT which exerts a broader impact on the entire targeted area [8,13].

Radiofrequency ablation has demonstrated a very high safety profile, with no serious adverse effects observed. The nasal cavity is highly vascularized and RFA, although minimally invasive, still causes some trauma. Minimal bleeding should be expected as a common side effect, the same way it occurs during highly invasive procedures associated with a higher risk of serious complications such as surgery [6,16,76]. However, as with ECT, RFA induces a phenomenon known as the vascular lock, which helps reduce bleeding both during and after the procedure [11,80]. This occurs due to the thermal coagulation of surrounding blood vessels as the heat generated by the RFA destroys the tissue. The elevated temperature effectively seals the vessels, resulting in immediate coagulation and minimizing the risk of hemorrhage. The vascular lock is one of the advantages of RFA compared to other procedures [58,59,67,68]. As described in human medicine, RFA provides optimal bleeding control and causes minimal thermal damage to adjacent tissues [39].

Local invasiveness and recurrence are among the main characteristics of nasal carcinomas. In this study, five patients who previously underwent nasal exenteration were included. Although the number of cases is limited, no significant difference was observed

in tissue reduction response in patients treated surgically before RFA. Similarly, RFA could be considered for patients with recurrence after RT, potentially avoiding or delaying re-irradiation. Additionally, some studies recommend surgical cytoreduction following RT if a macroscopically visible residual tumor is present [4,13,78,81], with the purpose of delaying recurrence [13,81]. Radiofrequency ablation could be considered as an alternative for patients for which a surgical approach or RT is not feasible.

An advantage of RFA is its potential use as a component of multimodal approaches. In this study, seven dogs were receiving toceranib when RFA was performed. It is not possible to ascertain whether there is a correlation between the response to radiofrequency and concomitant treatment with toceranib phosphate. However, previous studies in human medicine have demonstrated the efficacy of RFA and other thermoablative therapies when applied in conjunction with chemotherapeutic protocols, immunotherapy, or surgical approaches [82–86].

Another aspect that should be investigated in the future is the potential immunomodulatory effect that RFA might generate in nasal carcinomas. It has been demonstrated that different types of nasal tumors elicit varying immune responses [87]. After ablation, tumor antigens instantly become available to leukocytes, and the procedure creates an inflammatory environment that may help stimulate both innate and adaptive anti-tumor immunity [88]. Combining tumor debulking by RFA with immune-stimulatory approaches that enhance antigen presentation and promote anti-tumor T cell reactivity is a promising strategy to prevent local recurrences and induce long-term systemic protection against residual disease [40,88–90]. A recent study on canine lung tumors demonstrated that irreversible electroporation induces local necrosis and significant apoptosis, marked by increased cleaved caspase-3. Post-treatment, the tumor microenvironment showed immunomodulatory changes, including altered macrophage infiltration and significant gene expression changes related to inflammation and immune response, such as IDO1, IL-6, TNF, CD209, and FOXP3 [40].

The effectiveness of RFA in non-carcinomatous nasal tumors remains an area for future exploration. Tumor sensitivity to RT is influenced by the α/β ratio, with carcinomas generally showing a higher ratio and better response compared to sarcomas, which tend to have a lower α/β ratio. Sarcomas, due to their heterogeneity and complex vascularization, respond less effectively to RFA, particularly in primary soft tissue sarcomas [8,91,92].

This study presents several limitations. Firstly, only patients with a histopathological diagnosis of nasal adenocarcinoma were recruited. While it is the most common, other carcinoma subtypes, such as squamous cell carcinoma or undifferentiated carcinoma, were excluded. The decision to exclude nasal tumors other than adenocarcinomas was based on two considerations: first, the aim to maintain a homogeneous population of clinical cases with a consistent histological tumor type; and second, the fact that adenocarcinomas are the most prevalent nasal neoplasms in dogs [3,13,77,78]. Taking into consideration that these tumor types have different survival rates and behavior [78], our results cannot be generalized to other carcinomas or other types of nasal tumors such as fibrosarcoma, chondrosarcoma, osteosarcoma, or lymphomas.

A second limitation was that we did not know the number of dogs that had undergone cytological examination of the mandibular lymph nodes prior to the study. At T0 and T2, lymph nodal and pulmonary metastasis were ruled out based on the radiological criterion of lymph node size on the CT scan.

Reporting a disease-free interval or a median survival time following the CT-guided RFA falls outside the scope of the present study. Although the initial tumor volume reduction results are very promising, larger studies with mid-term and long-term follow-ups are needed to better define the benefits of RFA in nasal adenocarcinomas in dogs.

5. Conclusions

Radiofrequency ablation in nasal adenocarcinomas appears to be a safe and feasible procedure, achieving significant tumor volume reduction and improvement in clinical signs

without significant adverse events. This procedure could be considered as an alternative to RT or surgery when these strategies are discarded, or as a cytoreductive strategy in cases of recurrence or partial response.

Author Contributions: Conceptualization, M.D.A., P.G.-O., A.C.; methodology, M.D.A., P.G.-O., T.F., J.C., A.B.-F., J.L.; software, I.d.B., L.G.; validation, I.R.-P., B.B.; formal analysis, I.d.B., L.G.; investigation, P.G.-O., M.D.A., T.F., J.C., A.B.-F., J.L., D.R., A.E.; resources, M.D.A., I.d.B., P.G.-O., A.C., P.P., L.G., B.B., I.R.-P., T.F., J.C., A.B.-F., J.L., D.R., A.E.; data curation, P.G.-O., A.C., I.d.B., P.P.; writing—original draft preparation, P.G.-O., A.C.; writing—review and editing, M.D.A., I.d.B., P.G.-O., A.C., P.P., L.G., B.B., I.R.-P., T.F., J.C., A.B.-F., J.L., D.R., A.E. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The Advisory Ethics Committee for Animal Experimentation of the University of Zaragoza reviewed and approved the procedures performed. Ref. PI55/24 NE. As the study falls outside the scope of RD 53/2013 (Directive 2010/63/EU), as it pertains to a clinical study, informed consent was obtained from all guardians of the animals involved.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all guardians of the dogs included in this study.

Data Availability Statement: The original data presented in the study are openly available in FigShare at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.27902472>.

Conflicts of Interest: María Dolores Alférez and Pablo Gómez-Ochoa are employees of VetCorner Unavets, and Telmo Fernandes is an employee of Imaginología Veterinaria do Porto, which provided radiofrequency ablation services. The other authors have no competing interests.

References

- Bienes, T.; Robin, E.; Le Boedec, K. Hydrodilatation as Palliative, Long-Term, Last-Resort Treatment of Nasal Carcinoma in a Dog and a Cat. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **2019**, *55*, e55501. [CrossRef] [PubMed]
- Ishigaki, K.; Nariai, K.; Izumi, M.; Teshima, K.; Seki, M.; Edamura, K.; Takahashi, T.; Asano, K. Endoscopic photodynamic therapy using talaporfin sodium for recurrent intranasal carcinomas after radiotherapy in three dogs. *J. Small Anim. Pract.* **2018**, *59*, 128–132. [CrossRef]
- Merino-Gutierrez, V.; Borrego, J.F.; 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.* **2021**, *62*, 881–885. [CrossRef]
- Adams, W.M.; Kleiter, M.M.; Thrall, D.E.; Klauer, J.M.; Forrest, L.J.; La Due, T.A.; Havighurst, T.C. Prognostic significance of tumor histology and computed tomographic staging for radiation treatment response of canine nasal tumors. *Vet. Radiol. Ultrasound* **2009**, *50*, 330–335. [CrossRef] [PubMed]
- Murphy, S.M.; Lawrence, J.A.; Schmiedt, C.W.; Davis, K.W.; Lee, F.T., Jr.; Forrest, L.J.; Bjorling, D.E. Image-guided transnasal cryoablation of a recurrent nasal adenocarcinoma in a dog. *J. Small Anim. Pract.* **2011**, *52*, 329–333. [CrossRef] [PubMed]
- Carreira, L.M.; Azevedo, P. Advantages of the co(2) laser use in the rare condition of nasal mucosa squamous cell carcinoma surgery in dogs—a clinical prospective study. *Lasers Med. Sci.* **2024**, *39*, 114. [CrossRef] [PubMed]
- Ehling, T.J.; Klein, M.K.; Smith, L.; Prescott, D.; Haney, S.; Looper, J.; LaDue, T.; Brawner, W.; Fidel, J.; Shiomitsu, K.; et al. A prospective, multi-centre, Veterinary Radiation Therapy Oncology Group study reveals potential efficacy of toceranib phosphate (Palladia) as a primary or adjuvant agent in the treatment of canine nasal carcinoma. *Vet. Comp. Oncol.* **2022**, *20*, 293–303. [CrossRef]
- Morgan, M.J.; Lurie, D.M.; Villamil, A.J. 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*, 70. [CrossRef] [PubMed]
- Rassnick, K.M.; Goldkamp, C.E.; Erb, H.N.; Scrivani, P.V.; Njaa, B.L.; Gieger, T.L.; Turek, M.M.; McNiel, E.A.; Proulx, D.R.; Chun, R.; et al. Evaluation of factors associated with survival in dogs with untreated nasal carcinomas: 139 cases (1993–2003). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2006**, *229*, 401–406. [CrossRef]
- Cancedda, S.; Sabattini, S.; Bettini, G.; Leone, V.F.; Laganga, P.; Rossi, F.; Terragni, R.; Gnudi, G.; Vignoli, M. Combination of radiation therapy and firocoxib for the treatment of canine nasal carcinoma. *Vet. Radiol. Ultrasound* **2015**, *56*, 335–343. [CrossRef] [PubMed]
- Maglietti, F.; Tellado, M.; Olaiz, N.; Michinski, S.; Marshall, G. Minimally Invasive Electrochemotherapy Procedure for Treating Nasal Duct Tumors in Dogs using a Single Needle Electrode. *Radiol. Oncol.* **2017**, *51*, 422–430. [CrossRef] [PubMed]
- Bommarito, D.A.; Kent, M.S.; Selting, K.A.; Henry, C.J.; Lattimer, J.C. Reirradiation of recurrent canine nasal tumors. *Vet. Radiol. Ultrasound* **2011**, *52*, 207–212. [CrossRef] [PubMed]

13. Mayer, M.N.; DeWalt, J.O.; Sidhu, N.; Mauldin, G.N.; Waldner, C.L. 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*, 602–612. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Gieger, T.L.; Haney, S.M.; Nolan, M.W. Re-irradiation of canine non-lymphomatous nasal tumours using stereotactic radiation therapy (10 Gy x 3) for both courses: Assessment of outcome and toxicity in 11 dogs. *Vet. Comp. Oncol.* **2022**, *20*, 502–508. [[CrossRef](#)]
15. Dickerson, V.M.; Grimes, J.A.; Vetter, C.A.; Colopy, S.A.; Duval, J.M.; Northrup, N.C.; Schmiedt, C.W. Outcome following cosmetic rostral nasal reconstruction after planectomy in 26 dogs. *Vet. Surg.* **2019**, *48*, 64–69. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Adams, W.M.; Bjorling, D.E.; McAnulty, J.E.; Green, E.M.; Forrest, L.J.; Vail, D.M. 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.* **2005**, *227*, 936–941. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Laing, E.J.; Binnington, A.G. Surgical therapy of canine nasal tumors: A retrospective study (1982–1986). *Can. Vet. J.* **1988**, *29*, 809–813. [[PubMed](#)]
18. Pauly, L.A.M.; Junginger, J.; Oechtering, G.U.; Hewicker-Trautwein, M.; Rösch, S. Expression of vascular endothelial growth factor receptor-2, epidermal growth factor receptor, cyclooxygenase-2, survivin, E-cadherin and Ki-67 in canine nasal carcinomas and sarcomas—A pilot study. *Front. Vet. Sci.* **2024**, *11*, 1388493. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Giuliano, A.; Almendros, A. Retrospective Evaluation of a Combination of Carboplatin and Bleomycin for the Treatment of Canine Carcinomas. *Animals* **2022**, *12*, 2340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Woodruff, M.J.; Heading, K.L.; Bennett, P. Canine intranasal tumours treated with alternating carboplatin and doxorubicin in conjunction with oral piroxicam: 29 cases. *Vet. Comp. Oncol.* **2019**, *17*, 42–48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Dobson, J.; de Queiroz, G.F.; Golding, J.P. Photodynamic therapy and diagnosis: Principles and comparative aspects. *Vet. J.* **2018**, *233*, 8–18. [[CrossRef](#)]
22. Ellis, L.M.; Curley, C.A.; Tanabe, K.K. *Radiofrequency Ablation: Current Indications, Techniques and Outcomes*; Springer: New York, NY, USA, 2004; Volume 242.
23. Singh, S.; Melnik, R. Thermal ablation of biological tissues in disease treatment: A review of computational models and future directions. *Electromagn. Biol. Med.* **2020**, *39*, 49–88. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Vogt, F.M.; Antoch, G.; Veit, P.; Freudenberg, L.S.; Blechschmid, N.; Diersch, O.; Bockisch, A.; Barkhausen, J.; Kuehl, H. Morphologic and functional changes in nontumorous liver tissue after radiofrequency ablation in an in vivo model: Comparison of 18F-FDG PET/CT, MRI, ultrasound, and CT. *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 1836–1844. [[CrossRef](#)]
25. Alyusuf, E.Y.; Ekhzaimy, A.A.; Rivera, J.A. Radiofrequency Ablation as a Primary Therapy for Benign Functioning Insulinoma. *AACE Clin. Case Rep.* **2021**, *7*, 153–157. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Bai, X.M.; Cui, M.; Yang, W.; Wang, H.; Wang, S.; Zhang, Z.Y.; Wu, W.; Chen, M.H.; Yan, K.; Goldberg, S.N. The 10-year Survival Analysis of Radiofrequency Ablation for Solitary Hepatocellular Carcinoma 5 cm or Smaller: Primary versus Recurrent HCC. *Radiology* **2021**, *300*, 458–469. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Dai, Y.; Covarrubias, D.; Uppot, R.; Arellano, R.S. Image-Guided Percutaneous Radiofrequency Ablation of Central Renal Cell Carcinoma: Assessment of Clinical Efficacy and Safety in 31 Tumors. *J. Vasc. Interv. Radiol.* **2017**, *28*, 1643–1650. [[CrossRef](#)]
28. Galletti, B.; Gazia, F.; Galletti, C.; Freni, F.; Galletti, C.; Bruno, R.; Sireci, F.; Galletti, F. Radiofrequency VS Cold Surgery to Treat Oral Papillomatous Lesions. *Iran. J. Otorhinolaryngol.* **2021**, *33*, 87–91. [[CrossRef](#)]
29. Hasegawa, T.; Kuroda, H.; Sakakura, N.; Sato, Y.; Chatani, S.; Murata, S.; Yamaura, H.; Nakada, T.; Oya, Y.; Inaba, Y. Novel strategy to treat lung metastases: Hybrid therapy involving surgery and radiofrequency ablation. *Thorac. Cancer* **2021**, *12*, 2085–2092. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Inoue, T.; Yoneda, M. Updated evidence on the clinical impact of endoscopic radiofrequency ablation in the treatment of malignant biliary obstruction. *Dig. Endosc.* **2021**, *34*, 345–358. [[CrossRef](#)]
31. Koo, J.S.; Chung, S.H. The Efficacy of Radiofrequency Ablation for Bone Tumors Unsuitable for Radical Excision. *Clin. Orthop. Surg.* **2021**, *13*, 278–285. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Nunes, T.F.; Szejnfeld, D.; Xavier, A.C.; Goldman, S.M. Percutaneous ablation of functioning adenoma in a patient with a single adrenal gland. *BMJ Case Rep.* **2013**, *2013*, bcr2013009692. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Nunes, T.F.; Szejnfeld, D.; Xavier, A.C.; Kater, C.E.; Freire, F.; Ribeiro, C.A.; Goldman, S.M. Percutaneous ablation of functioning adrenal adenoma: A report on 11 cases and a review of the literature. *Abdom. Imaging* **2013**, *38*, 1130–1135. [[CrossRef](#)]
34. Qu, C.; Li, X.Q.; Li, C.; Xia, F.; Feng, K.; Ma, K. The Short-Term Efficacy of Novel No-Touch Combined Directional Perfusion Radiofrequency Ablation in the Treatment of Small Hepatocellular Carcinoma with Cirrhosis. *J. Investig. Surg.* **2021**, *35*, 880–887. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Rımbaş, M.; Rizzatti, G.; Larghi, A. EUS-guided ablation of pancreatic neoplasms. *Minerva Gastroenterol.* **2021**, *68*, 186–201. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Shen, X.; Chen, T.; Yang, B.; Liu, N.; Qian, X.; Xia, B.; Feng, D.; Chen, S. Magnetic resonance imaging-guided microwave ablation for lung tumor: A case report. *Quant. Imaging Med. Surg.* **2021**, *11*, 2780–2784. [[CrossRef](#)]
37. Shibamoto, K.; Mimura, H.; Fukuhara, Y.; Nishino, K.; Kawamoto, H.; Kato, K. Feasibility, safety, and efficacy of artificial carbon dioxide pneumothorax for computed tomography fluoroscopy-guided percutaneous radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *Jpn. J. Radiol.* **2021**, *39*, 1119–1126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

38. Wu, M.H.; Chen, K.Y.; Chen, A.; Chen, C.N. Differences in the ultrasonographic appearance of thyroid nodules after radiofrequency ablation. *Clin. Endocrinol.* **2021**, *95*, 489–497. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Ferrari, M.; Orlandi, E.; Bossi, P. Sinonasal cancers treatments: State of the art. *Curr. Opin. Oncol.* **2021**, *33*, 196–205. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Hay, A.N.; Ayccock, K.N.; Lorenzo, M.F.; David, K.; Coutermarsh-Ott, S.; Salameh, Z.; Campelo, S.N.; Arroyo, J.P.; Ciepluch, B.; Daniel, G.; et al. Investigation of High Frequency Irreversible Electroporation for Canine Spontaneous Primary Lung Tumor Ablation. *Biomedicines* **2024**, *12*, 2038. [[CrossRef](#)]
41. Zhong, C.H.; Fan, M.Y.; Xu, H.; Jin, R.G.; Chen, Y.; Chen, X.B.; Tang, C.L.; Su, Z.Q.; Li, S.Y. Feasibility and Safety of Radiofrequency Ablation Guided by Bronchoscopic Transparenchymal Nodule Access in Canines. *Respiration* **2021**, *100*, 1097–1104. [[CrossRef](#)]
42. Yang, T.; Case, J.B.; Boston, S.; Dark, M.J.; Toskich, B. Microwave ablation for treatment of hepatic neoplasia in five dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2017**, *250*, 79–85. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Solari, F.P.; Case, J.B.; Vilaplana Grosso, F.R.; Bertran, J.; Fox-Alvarez, S.; Cabrera, R. Laparoscopic ultrasound-guided microwave ablation of hepatocellular carcinoma in a dog. *Vet. Surg.* **2024**, *53*, 1495–1503. [[CrossRef](#)]
44. Partridge, B.R.; O'Brien, T.J.; Lorenzo, M.F.; Coutermarsh-Ott, S.L.; Barry, S.L.; Stadler, K.; Muro, N.; Meyerhoeffer, M.; Allen, I.C.; Davalos, R.V.; et al. High-Frequency Irreversible Electroporation for Treatment of Primary Liver Cancer: A Proof-of-Principle Study in Canine Hepatocellular Carcinoma. *J. Vasc. Interv. Radiol.* **2020**, *31*, 482–491.e4. [[CrossRef](#)]
45. Mazzaccari, K.; Boston, S.E.; Toskich, B.B.; Bowles, K.; Case, J.B. Video-assisted microwave ablation for the treatment of a metastatic lung lesion in a dog with appendicular osteosarcoma and hypertrophic osteopathy. *Vet. Surg.* **2017**, *46*, 1161–1165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Locatelli, A.; Treggiari, E.; Innocenti, M.; Romanelli, G. Percutaneous ultrasound-guided microwave ablation for treatment of hepatocellular carcinomas in dogs: Four cases (2019–2020). *J. Small Anim. Pract.* **2022**, *63*, 897–903. [[CrossRef](#)]
47. Liu, R.; Duan, S.; Cao, H.; Cao, G.; Chang, Z.; Zhang, Y.; Li, Y.; Wu, Y.; Liu, L.; Zhang, L. A pilot study of the shapes of ablation lesions in the canine prostate by laser, radiofrequency and microwave and their clinical significance. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0223229. [[CrossRef](#)]
48. Jia, L.; Bin, H.; Bing, H.; Jin, H. CEUS examination of the outcome of radiofrequency ablation of canine prostate lesions. *Minim. Invasive Ther. Allied Technol.* **2021**, *30*, 334–340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Hung, A.J.; Ma, Y.; Zehnder, P.; Nakamoto, M.; Gill, I.S.; Ukimura, O. Percutaneous radiofrequency ablation of virtual tumours in canine kidney using Global Positioning System-like technology. *BJU Int.* **2012**, *109*, 1398–1403. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Hu, B.; Hu, B.; Chen, L.; Li, J.; Huang, J. Contrast-enhanced ultrasonography evaluation of radiofrequency ablation of the prostate: A canine model. *J. Endourol.* **2010**, *24*, 89–93. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Gomez Ochoa, P.; Alvarez, M.D.; de Blas, I.; Fernandes, T.; Sanchez Salguero, X.; Balana, B.; Melendez Lazo, A.; Barbero Fernandez, A.; Caivano, D.; Corda, F.; et al. Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation of Chemodectomas in Five Dogs. *Animals* **2021**, *11*, 2790. [[CrossRef](#)]
52. Dornbusch, J.A.; Wavreille, V.A.; Dent, B.; Fuerst, J.A.; Green, E.M.; Selmic, L.E. Percutaneous microwave ablation of solitary presumptive pulmonary metastases in two dogs with appendicular osteosarcoma. *Vet. Surg.* **2020**, *49*, 1174–1182. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Culp, W.T.N.; Johnson, E.G.; Palm, C.A.; Burton, J.H.; Rebhun, R.B.; Rodriguez, C.O.; Kent, M.S.; Glaiberman, C.B. Use of percutaneous microwave ablation in the treatment of retroperitoneal neoplasia in three dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2021**, *259*, 1171–1177. [[CrossRef](#)]
54. Chen, W.; Tang, X.; Yang, X.; Weng, C.; Yang, K.; Wen, J.; Liu, H.; Wu, Y. Effects and Mechanisms of Radiofrequency Ablation of Renal Sympathetic Nerve on Anti-Hypertension in Canine. *Arg. Bras. Cardiol.* **2017**, *108*, 237–245. [[CrossRef](#)]
55. Carroll, J.; Coutermarsh-Ott, S.; Klahn, S.L.; Tuohy, J.; Barry, S.L.; Allen, I.C.; Hay, A.N.; Ruth, J.; Dervisis, N. High intensity focused ultrasound for the treatment of solid tumors: A pilot study in canine cancer patients. *Int. J. Hyperther.* **2022**, *39*, 855–864. [[CrossRef](#)]
56. Alferez, M.D.; Corda, A.; de Blas, I.; Gago, L.; Fernandes, T.; Rodriguez-Piza, L.; Balañá, B.; Corda, F.; Gómez Ochoa, P. Percutaneous Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation as a Therapeutic Approach for the Management of Insulinomas and Associated Metastases in Dogs. *Animals* **2024**, *14*, 3301. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Du, W. Effect analysis of nasal inverted papilloma in nasal cavity and paranasal sinus by radiofrequency ablation under nasal endoscopy. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* **2013**, *27*, 42–43. [[PubMed](#)]
58. Liang, J.P.; Li, D.Y.; Liu, B. Radiofrequency treatment of hemangioma of nasal cavity under nasal endoscopy. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi* **2000**, *14*, 456–457.
59. Kostrzewa, J.P.; Sunde, J.; Riley, K.O.; Woodworth, B.A. Radiofrequency coblation decreases blood loss during endoscopic sinonasal and skull base tumor removal. *ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.* **2010**, *72*, 38–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Lou, Z.C. Microwave Ablation for the Removal of Benign Lesion of Nasal Cavity: “How I Do It”. *Am. J. Rhinol. Allergy* **2020**, *34*, 74–79. [[CrossRef](#)]
61. Long, X.; Li, Z.; Liu, Y.; Zhen, H. Clinical Application of Low-Temperature Plasma Radiofrequency in the Treatment of Hemangioma in Nasal Cavity, Pharynx and Larynx. *Ear Nose Throat J.* **2024**, *103*, 447–453. [[CrossRef](#)]
62. She, C.P.; Zhang, Q.F.; Song, W.; Zhang, X.R.; Cheng, C.J.; Pan, T. Endoscopic surgery using the low-temperature plasma radiofrequency for nasal hemangioma. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* **2010**, *45*, 197–199. [[PubMed](#)]

63. Zhang, D.; Xiao, L.; Tian, H. Endoscopic pleomorphic adenoma of nasal septum resection assisted by low-temperature plasma radiofrequency: A case report. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* **2014**, *28*, 1713.
64. Zhang, Q.; She, C.; Song, W.; Cui, S. Nasal mucosa recovery after endoscopic surgery using the plasma radiofrequency ablation at low temperature for treatment of nasal inverted papilloma. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* **2014**, *28*, 520–522.
65. Zhong, Q.Y.; Sun, Q.; Liu, Z.H. Endoscopic Low-Temperature Plasma Radiofrequency Ablation for Primary Thyroid-Like Low-Grade Nasopharyngeal Papillary Adenocarcinoma. *Ear Nose Throat J.* **2021**, *100*, 563–564. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Cannon, D.E.; Poetker, D.M.; Loehrl, T.A.; Chun, R.H. Use of coblation in resection of juvenile nasopharyngeal angiofibroma. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **2013**, *122*, 353–357. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Ruiz, J.W.; Saint-Victor, S.; Tessema, B.; Eloy, J.A.; Anstead, A. Coblation assisted endoscopic juvenile nasopharyngeal angiofibroma resection. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* **2012**, *76*, 439–442. [[CrossRef](#)]
68. Syed, M.I.; Mennie, J.; Williams, A.T. Early experience of radio frequency coblation in the management of intranasal and sinus tumors. *Laryngoscope* **2012**, *122*, 436–439. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Zhang, L.; Shi, H.; Li, D.; Ye, H.; Zhang, W.; Yin, S. Radiofrequency Coblation-Assisted Resection of Skull Base Neoplasms Using an Endoscopic Endonasal Approach. *ORL J. Otorhinolaryngol. Relat. Spec.* **2020**, *82*, 25–33. [[CrossRef](#)]
70. Goldberg, S.N.; Gazelle, G.S.; Compton, C.C.; Mueller, P.R.; Tanabe, K.K. Treatment of intrahepatic malignancy with radiofrequency ablation: Radiologic-pathologic correlation. *Cancer* **2000**, *88*, 2452–2463. [[CrossRef](#)]
71. Jiang, B.; Zhao, K.; Yan, K.; Wang, S.; Meng, Y.; Liu, B.; Wu, H.; Wang, H. Percutaneous radiofrequency ablation near large vessels in beagle livers: The impact of time and distance on the ablation zone. *Int. J. Hyperth.* **2021**, *38*, 1263–1270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Wood, B.J.; Abraham, J.; Hvizda, J.L.; Alexander, H.R.; Fojo, T. Radiofrequency ablation of adrenal tumors and adrenocortical carcinoma metastases. *Cancer* **2003**, *97*, 554–560. [[CrossRef](#)]
73. Faraoni, D.; Willems, A.; Melot, C.; De Hert, S.; Van der Linden, P. Efficacy of tranexamic acid in paediatric cardiac surgery: A systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* **2012**, *42*, 781–786. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Fletcher, D.J.; Blackstock, K.J.; Epstein, K.; Brainard, B.M. Evaluation of tranexamic acid and epsilon-aminocaproic acid concentrations required to inhibit fibrinolysis in plasma of dogs and humans. *Am. J. Vet. Res.* **2014**, *75*, 731–738. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Marin, L.M.; Iazbik, M.C.; Zaldivar-Lopez, S.; Guillaumin, J.; McLoughlin, M.A.; Couto, C.G. Epsilon aminocaproic acid for the prevention of delayed postoperative bleeding in retired racing greyhounds undergoing gonadectomy. *Vet. Surg.* **2012**, *41*, 594–603. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Henry, C.J.; Brewer, W.G., Jr.; Tyler, J.W.; Brawner, W.R.; Henderson, R.A.; Hanks, G.H.; Royer, N. Survival in dogs with nasal adenocarcinoma: 64 cases (1981-1995). *J. Vet. Intern. Med.* **1998**, *12*, 436–439. [[CrossRef](#)]
77. Malinowski, C. Canine and feline nasal neoplasia. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* **2006**, *21*, 89–94. [[CrossRef](#)]
78. Mizuno, R.; Mori, T. Prognostic factors and survival following radiation therapy for canine nasal tumors: A single-institution retrospective study of 166 cases. *Open Vet. J.* **2024**, *14*, 1538–1552. [[CrossRef](#)]
79. Nemcek, A.A. Complications of radiofrequency ablation of neoplasms. *Semin. Interv. Radiol.* **2006**, *23*, 177–187. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
80. Mir, L.M.; Morsli, N.; Garbay, J.R.; Billard, V.; Robert, C.; Marty, M. Electrochemotherapy: A new treatment of solid tumors. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **2003**, *22*, 145–148. [[PubMed](#)]
81. Hunley, D.W.; Mauldin, G.N.; Shiomitsu, K.; Mauldin, G.E. Clinical outcome in dogs with nasal tumors treated with intensity-modulated radiation therapy. *Can. Vet. J.* **2010**, *51*, 293–300.
82. Zhang, Y.; Sun, Y.; Chen, J.; Wang, X.; Wu, K.; Huang, Z. Microwave ablation combined with neoadjuvant chemotherapy for the treatment of breast cancer: A randomized controlled trial. *Oncotarget* **2017**, *8*, 44579–44591.
83. Song, M.J.; Bae, S.H.; Lee, J.S.; Lee, S.W.; Song, D.S.; You, C.R.; Choi, J.Y.; Yoon, S.K. Radiofrequency ablation plus drug-eluting beads transcatheter arterial chemoembolization for the treatment of single large hepatocellular carcinoma. *Liver Int.* **2019**, *39*, 1427–1436.
84. Liu, H.; Wang, Z.G.; Fu, S.Y.; Li, A.J.; Pan, Z.Y.; Zhou, W.P.; Lau, W.Y.; Wu, M.C. Combination of radiofrequency ablation with transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: A multicentre randomized trial. *J. Hepatol.* **2016**, *64*, 619–626.
85. Kim, J.W.; Kim, J.H.; Won, H.J.; Shin, Y.M.; Yoon, H.K.; Sung, K.B.; Kim, P.N. Percutaneous radiofrequency ablation combined with transcatheter arterial chemoembolization and ethanol injection for hepatocellular carcinoma 3–5 cm in diameter. *Eur. Radiol.* **2014**, *24*, 403–409.
86. Greten, T.F.; Mauda-Havakuk, M.; Heinrich, B.; Korangy, F.; Wood, B.J. Combination radiofrequency ablation and immunotherapy in unresectable hepatocellular carcinoma: A randomized phase II trial. *J. Clin. Oncol.* **2020**, *38*, 4590.
87. Vanherberghen, M.; Day, M.J.; Delvaux, F.; Gabriel, A.; Clercx, C.; Peeters, D. An immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with nasal carcinoma in dogs and cats. *J. Comp. Pathol.* **2009**, *141*, 17–26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Nierkens, S.; den Brok, M.H.; Ruers, T.J.; Adema, G.J. Radiofrequency Ablation in Cancer Therapy: Tuning in to in situ Tumor Vaccines. In *Tumor Ablation: Effects on Systemic and Local Anti-Tumor Immunity and on Other Tumor-Microenvironment Interactions*; Keisari, Y., Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2013; pp. 39–59. [[CrossRef](#)]
89. Gameiro, S.R.; Higgins, J.P.; Dreher, M.R.; Woods, D.L.; Reddy, G.; Wood, B.J.; Guha, C.; Hodge, J.W. Combination therapy with local radiofrequency ablation and systemic vaccine enhances antitumor immunity and mediates local and distal tumor regression. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e70417. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

90. Slovak, R.; Ludwig, J.M.; Gettinger, S.N.; Herbst, R.S.; Kim, H.S. Immuno-thermal ablations—Boosting the anticancer immune response. *J. Immunother. Cancer* **2017**, *5*, 78. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
91. Palussière, J.; Italiano, A.; Descat, E.; Ferron, S.; Cornélis, F.; Avril, A.; Brouste, V.; Bui, B.N. Sarcoma Lung Metastases Treated with Percutaneous Radiofrequency Ablation: Results from 29 Patients. *Ann. Surg. Oncol.* **2011**, *18*, 3771–3777. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Parvinian, A.; Thompson, S.M.; Schmitz, J.J.; Welch, B.T.; Hibbert, R.; Adamo, D.A.; Kurup, A.N. Update on Percutaneous Ablation for Sarcoma. *Curr. Oncol. Rep.* **2024**, *26*, 601–613. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

4.2. Ablación por radiofrecuencia percutánea ecoguiada en insulinomas y sus metástasis

Alfárez MD, Corda A, de Blas I, Gago L, Fernandes T, Rodríguez-Piza I, Balañá B, Corda F, Gómez Ochoa P. *Percutaneous Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation as a Therapeutic Approach for the Management of Insulinomas and Associated Metastases in Dogs. **Animals**, 2024;14(22):3301. doi: 10.3390/ani14223301.*

Este estudio prospectivo analiza la eficacia, viabilidad y seguridad de la RFA guiada por ecografía en el manejo de insulinomas y sus metástasis en perros. La investigación, realizada entre 2020 y 2024, incluyó 29 perros diagnosticados mediante criterios clínicos, laboratoriales y de imagen. Los insulinomas primarios se localizaron en el páncreas y, en 55 % de los casos, coexistían metástasis en nódulos linfáticos regionales o en el hígado.

El procedimiento se llevó a cabo bajo anestesia general utilizando un electrodo LeVein de configuración en paraguas. La técnica consistió en la colocación precisa del electrodo guiada por ecografía. El punto de *roll-off* se empleó como indicativo de necrosis tisular completa. Durante la intervención, se monitorizaron parámetros hemodinámicos y metabólicos, asegurando la estabilidad del paciente y la eficacia del tratamiento.

La respuesta terapéutica se evaluó mediante mediciones secuenciales de glucosa en sangre y estudios de imagen seriados. Se registró una normalización significativa de la glucemia en el 90 % de los casos y una reducción del volumen tumoral promedio del 78 % (rango 65-89 %). Además, los pacientes mostraron una mejora clínica evidente, resolviéndose los episodios de hipoglucemia en todos los casos y reduciéndose los síntomas neurológicos relacionados.

El seguimiento a largo plazo (>12 meses) incluyó a 20 perros. De estos, 12 no requirieron intervenciones adicionales, mientras que ocho presentaron recurrencias locales o progresión de metástasis. En estos últimos casos, se realizaron procedimientos de ablación repetidos con éxito parcial o total. No se observaron complicaciones intraoperatorias graves ni eventos adversos significativos durante el período de recuperación.

Los hallazgos de este estudio sugieren que la RFA guiada por ecografía es una opción terapéutica eficaz y segura para insulinomas caninos y sus metástasis. Representa una alternativa menos invasiva frente a la cirugía convencional, con tiempos de recuperación más cortos y menores riesgos asociados. La marcada reducción tumoral, el control de la hipoglucemia y la mejora en la calidad de vida del paciente respaldan la inclusión de esta técnica en los protocolos de manejo integral de estas neoplasias endocrinas.

Article

Percutaneous Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation as a Therapeutic Approach for the Management of Insulinomas and Associated Metastases in Dogs

María Dolores Alférez ¹, Andrea Corda ^{2,*}, Ignacio de Blas ³, Lucas Gago ⁴, Telmo Fernandes ⁵, Ignacio Rodríguez-Piza ⁶, Beatriz Balañá ⁷, Francesca Corda ² and Pablo Gómez Ochoa ^{1,3}

¹ VetCorner Unavets, 50012 Zaragoza, Spain; lolalferez77@gmail.com (M.D.A.); pablogomezchoa@gmail.com (P.G.O.)

² Department of Veterinary Medicine, University of Sassari, 07100 Sassari, Italy; francescacorda91@tiscali.it

³ Department of Animal Pathology, University of Zaragoza, 50013 Zaragoza, Spain; debblas@unizar.es

⁴ Department of Mathematics and Computer Science, University of Barcelona, 08007 Barcelona, Spain; lgagogag69@alumnes.ub.edu

⁵ Imaginologia Veterinaria do Porto, 4490-479 Porto, Portugal; insidevetecografia@gmail.com

⁶ Anicura Glòries Hospital Veterinari, 08010 Barcelona, Spain; ignasi.rodriiguez@anicura.es

⁷ Hospital Aralar Veterinarios, 50410 Zaragoza, Spain; bboncovet@gmail.com

* Correspondence: acorda1@uniss.it; Tel.: +39-349-4381468

Simple Summary: Insulinomas are the most common tumors of the endocrine pancreas in dogs, often resulting in severe hypoglycemia and neurological symptoms. Surgical resection has been the traditional treatment, but it poses significant risks. This study explores the use of ultrasound-guided radiofrequency ablation (RFA) as a safer and less invasive alternative. RFA was found to effectively control glucose levels and reduce tumor size in most treated dogs while reducing recovery times and complications. These findings suggest that RFA offers a valuable treatment option for managing insulinomas and their metastasis in canine patients.

Abstract: Insulinomas are the most common neoplasms of the endocrine pancreas in dogs, leading to persistent hypoglycemia due to inappropriate insulin secretion. The standard treatment is surgical resection, but it carries significant risks, including pancreatitis and diabetes mellitus. This study investigates the efficacy and safety of percutaneous ultrasound-guided radiofrequency ablation (RFA) as an alternative to surgery. A total of 29 dogs diagnosed with insulinoma were treated with RFA, targeting both primary pancreatic tumors and metastases in regional lymph nodes or the liver. Blood glucose levels and tumor size were monitored before and after the procedure. RFA led to a significant increase in blood glucose levels and a reduction in tumor size in all patients, with minimal postoperative complications. The results suggest that RFA is a feasible and effective treatment option for insulinomas in dogs.

Keywords: insulinoma; radiofrequency ablation; canine; hypoglycemia; pancreatic tumor; metastases; minimally invasive; veterinary oncology; ultrasound-guided procedure



Citation: Alférez, M.D.; Corda, A.; de Blas, I.; Gago, L.; Fernandes, T.; Rodríguez-Piza, I.; Balañá, B.; Corda, F.; Gómez Ochoa, P. Percutaneous Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation as a Therapeutic Approach for the Management of Insulinomas and Associated Metastases in Dogs. *Animals* **2024**, *14*, 3301. <https://doi.org/10.3390/ani14223301>

Received: 19 September 2024

Revised: 11 November 2024

Accepted: 13 November 2024

Published: 16 November 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Primary pancreatic neoplasms, exocrine and endocrine in origin, have been documented across a range of species, encompassing humans, dogs, cats, and ferrets [1]. These are infrequent in the canine population, with an estimated incidence ranging from 0.01% to 0.07% [2]. The most prevalent neoplasia affecting the exocrine pancreas is pancreatic carcinoma, while the predominant neoplasia of the endocrine pancreas is insulinoma [3]. Insulinomas arise from pancreatic β -cells, which account for 60–75% of all islets of Langerhans cells and mainly lie in the middle of each islet [1]. The β -cells secrete insulin, the dominant glucose-lowering hormone, and amylin. Neoplastic β -cells, despite retaining

some responsiveness to physiological stimuli, exhibit abnormal behavior. These aberrant cells can synthesize and secrete insulin independently, without the typical suppressive influence of hypoglycemia. As a result, insulin and glucose regulation becomes uncoupled from the normal feedback mechanisms. Therefore, inappropriate insulin secretion by neoplastic cells leads to hypoglycemia and increased concentrations of insulin-antagonistic counterregulatory hormones and associated clinical signs [1,4]. The most common clinical manifestations are those characteristics of neuroglycopenia, including seizures, weakness, posterior paresis, collapse, and proprioceptive ataxia, often occurring in an episodic manner [5,6]. Canine patients may also present with muscle tremors, nervousness, and increased appetite secondary to the hypoglycemia-induced stimulation of the autonomic nervous system. Prolonged and severe hypoglycemia may ultimately lead to cerebral cortical laminar necrosis, resulting in coma and death [5]. Although insulinomas are more frequently observed in medium-to-large breed dogs, they can also occur in smaller dogs, with West Highland White Terriers being overrepresented [7]. Dogs of older age are more commonly affected [5]. The diagnosis of insulinoma is based on a combination of clinical signs, blood tests, and diagnostic imaging findings [1,5]. The most consistent laboratory abnormality in dogs with insulinoma is hypoglycemia paired with normoinsulinemia or hyperinsulinemia. However, glucose levels can fluctuate erratically, so repeated measurements may be necessary to document abnormal values [1,5]. In addition to blood tests, medical imaging is a standard procedure for evaluating the pancreas for mass-like lesions and assessing for local or distant metastasis [5]. Compared to human insulinomas, canine insulinomas are often more aggressive, with a higher tendency to metastasize to regional lymph nodes and the liver [8,9]. Insulinomas commonly appear as distinct, localized lesions within the pancreas, frequently of relatively small dimensions. However, they can occasionally exhibit a more widespread, diffuse distribution throughout the pancreatic parenchyma [4]. Although postoperative outcomes suggest that most canine insulinomas have metastasized at diagnosis, intraoperative examinations confirm metastases in only 45–55% of cases [1]. Surgical intervention remains the cornerstone of treatment for insulinomas in dogs, with techniques such as laparoscopic resection showing promise in enabling more minimally invasive approaches [1,2,4–7,10]. The surgical procedure carries significant risks, including pancreatitis, diabetes mellitus, wound complications, and hemorrhage [1,4,6,10,11]. Medical management strategies focus on controlling the clinical signs of hypoglycemia, rather than directly addressing the underlying neoplastic process. Medical management options for dogs with insulinoma include lifestyle and dietary modifications and/or pharmaceutical management with glucocorticoids, toceranib phosphate, diazoxide, glucagon, octreotide, propranolol, alloxan, and streptozocin [1,7,10,12,13]. Drawbacks include unpredictable responses, side effects, logistical issues with the route and frequency of administration, product availability, and cost [1,6,7,13]. While medical management can provide temporary symptomatic relief, it does not offer a definitive cure. Combining medical therapy and surgery in dogs results in a significantly better prognosis than medical treatment alone [10]. Some ablative techniques, including injective ablation (using ethanol or other ablative agents), radiofrequency ablation (RFA), microwave ablation, photodynamic therapy, and laser ablation, have been described in human medicine [14–20]. However, RFA has emerged as a promising alternative to surgical resection for managing insulinomas. RFA is a minimally invasive treatment based on alternating high-frequency electrical currents from an electrode that produces ionic agitation and generates frictional heat, thus causing coagulation necrosis [21,22]. This minimally invasive technique involves precisely applying high-frequency electrical currents to selectively destroy tumor tissue while sparing the surrounding healthy pancreatic tissue. Numerous studies, including three meta-analyses [23,24], can be found in the human medicine literature describing the feasibility and safety profile of RFA (especially endoscopic ultrasound-guided ablation) in the treatment of insulinomas [15,16,25–49]. Patients frequently demonstrate a rapid amelioration of hypoglycemic episodes and a more favorable safety profile relative to conventional open surgical procedures. The incorporation of this approach within veteri-

nary medicine holds the potential to offer canine patients suffering from insulinomas a less invasive treatment option, which may yield reduced postoperative complications and facilitate a quicker recovery period.

This prospective pilot study, therefore, aims to describe the percutaneous, ultrasound-guided RFA of insulinomas and their metastases to achieve glycaemia control. The primary objective was to evaluate the feasibility, safety, and outcomes in a cohort of twenty-nine canine patients.

2. Materials and Methods

The study population comprised 29 canine patients who underwent percutaneous radiofrequency ablation for insulinoma at two veterinary referral centers, VetCorner (Zaragoza, Spain) and Centro de Imagiología Veterinária do Porto (Porto, Portugal), during the period from 2015 to 2024. All owners signed their informed consent before submitting their dogs to the procedure described below. Lymph node and/or liver metastases were also ablated when present. Likewise, any prior surgery performed, the location of the lesions, and their stage were documented.

Work-ups for all dogs included a complete physical examination, urine and blood collection, abdominal ultrasonography, and echo-guided fine-needle aspiration of pancreatic nodules, lymph nodes, or liver lesions. Given that cytology is presumptive, as other neuroendocrine tumors, such as gastrinomas, may exhibit a similar cytologic appearance, the diagnosis of insulinoma was confirmed through a combination of hypoglycemia associated with normo- or hyperinsulinemia, ultrasonographic findings, and cytologic results. Insulinomas were staged as previously reported [10]. Briefly, dogs with tumors confined to the pancreas were classified as stage I, dogs with local lymph node metastases were classified as stage II, and dogs with distant metastases detected were classified as stage III. Ultrasonographic abdominal examinations were performed with a MyLab X8 (Esaote, Genova, Italy) or a MyLab Omega (Esaote, Genova, Italy) equipped with a microconvex probe of 8–11 MHz (Esaote, Genova, Italy). Pancreatic, lymph node, and liver lesions were sampled through ultrasonographic-guided fine-needle aspiration using a 27G needle. Aspirates were obtained by back-and-forth needle movements during the advancement of the needle. The cytological slides were air-dried and stained with Diff-Quik.

The percutaneous echo-guided RFA procedure was performed under general anesthesia with the dog placed in right or left lateral recumbence, depending on the lesion location. All dogs were premedicated with intravenous methadone 0.2 mg/kg (Semfortan, Dechra, Northwich, UK) and diazepam 0.25 mg/kg (Ziapam, Ecuphar, Barcelona, Spain). Induction was carried out with intravenous propofol and maintenance with the inhalant sevoflurane. Capnography, pulse oximetry, indirect arterial blood pressure, body temperature, electrocardiogram, and glucose levels were monitored before, during the procedure, and after thermal ablation was completed. To facilitate the interpretation of glycemic levels, glucocorticoids were withheld from the patients in the 12 h preceding the intervention. To maintain glycemia, patients with blood glucose levels below 60 mg/dL received boluses of 40% dextrose (0.5 to 1 mL/kg) diluted with saline at a minimum 1:2 ratio [50]. No patients received dextrose boluses once the procedure had concluded. Thermoablation was performed with an RF 3000 Radiofrequency Generator (Boston Scientific, Marlborough, MA, USA) with a LeVein Needle Electrode (Boston Scientific, Marlborough, MA, USA) (Figure 1), with an umbrella-like deployment configuration, whose diameter and length were based on the depth and size of the pancreatic, lymph node, or liver lesion to be ablated [22,51]. The electrode was positioned in the lesion under ultrasonographic guidance (Figure 2). A perpendicular approach was always used, allowing full visualization of the electrode. This “bull’s eye” view ensured that the electrode tip was precisely positioned within the target lesion. Once inside, ten atraumatic umbrella-like tines were deployed. In pancreatic and lymph node lesions, ballistic calculations were adjusted to fully include the entire tumor volume. Notably, achieving this in the jejunal lymph nodes required the overlapping of multiple ablation spheres of varying sizes to ensure complete coverage. For hepatic

lesions, ablation planning incorporated a healthy tissue margin of two to four millimeters around the tumor to establish a safe margin, aiming to reduce the risk of recurrence. To prevent thermal damage to the surrounding structures, lesions in the right lobe near the duodenum and those in the pancreatic body, close to the portal vein, were isolated with at least 2 mm of separation using a 5% dextrose solution (Glucosado 5%, B. Braun, Melsungen, Germany) [22]. This solution was instilled under ultrasound guidance prior to initiating the procedure, with the electrode already positioned.



Figure 1. LeVeen Needle Electrode: (a) the 2.0 Superslim LeVeen Needle Electrode; (b) the ten atraumatic umbrella-like tines of the electrode.

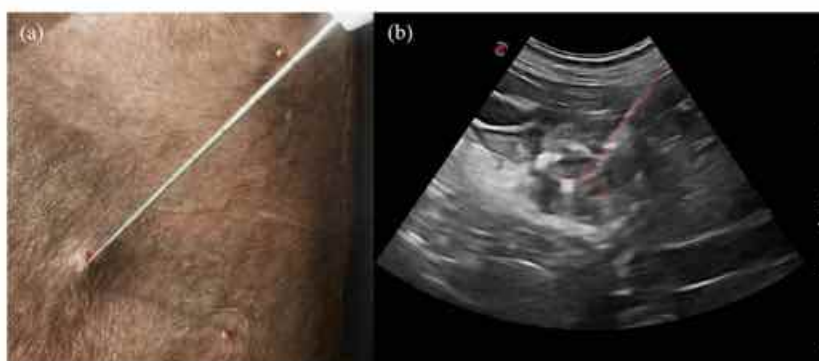


Figure 2. (a) LeVeen electrode positioned on the right lobe. (b) Sonographic appearance of the electrode deployed within the pancreatic lesion, overlain in light red.

At this point, the monopolar radiofrequency electrode was activated, transferring electrical current from the tines to the surrounding tissue, leading to coagulation necrosis of the neoplastic tissue [21,51–53]. To disperse the energy produced, four adhesive electrosurgical grounding pads (3M, Saint Paul, MI, USA) were attached to the dorsal region of each hemithorax, providing a safe return path for electrosurgical currents [22]. The time and power of electromagnetic energy tissue exposure were set following the manufacturer's recommendations. An increasing power algorithm was used until the increase in tissue impedance, which was directly correlated to tissue necrosis, led to the drop in the power delivered (roll-off point). Increased power in RFA raises the tissue temperature, leading to dehydration and subsequent necrosis; as necrosis progresses, reduced water content hinders electrical transmission, increasing impedance [22]. At this point, thermal ablation was considered complete. The maximum necrosis volume was created without damaging the surrounding tissues [52]. A single cycle was used for each of the spheres in pancreatic, lymph node, and hepatic lesions (Figure 3, Supplementary Materials Video S1).

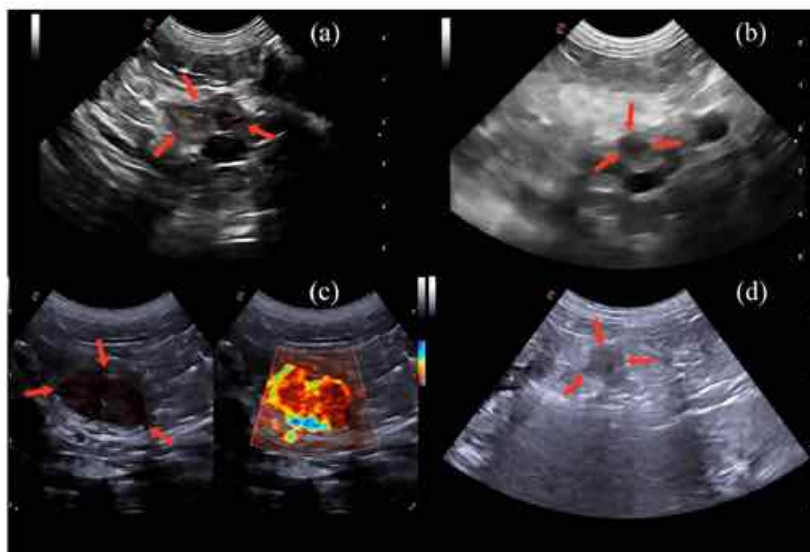


Figure 3. Sonographic appearance before RFA in pancreatic (a) and lymph node microV (c) lesions, and after 1 month post RFA, pancreatic (b) and lymph node (d) lesions. Overlain in light red and surrounded by arrows.

When the procedure was terminated, the electrode was withdrawn, and the electrode track was examined with Doppler ultrasonography to exclude bleeding. Cyanoacrylate tissue adhesive (3M VetBond, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Germany) was applied to close the point of entry of the electrode in the skin. Dogs were hospitalized and monitored before being discharged.

Clinical, biochemical, and ultrasonographic follow-up examinations were conducted one and six months after the procedure. Operators (M.D.A, P.G.O., T.F.) with several years of experience in ultrasonography and ultrasound-guided procedures performed all the ultrasonographic examinations before, during, and after the procedure. After each RFA procedure, the patients were discharged with anti-inflammatory (prednisolone 0.5 mg/kg, twice a day, orally for one week followed by 0.25 mg/kg, twice a day, orally for five days) and antibiotic medication (amoxicillin 12.5 mg/kg, twice a day, orally for one week). Moreover, to reduce fibrinolytic activation and minimize the perioperative bleeding risk, one week before and three days after the procedure, all of the dogs underwent treatment with an oral fibrinolysis inhibitor (tranexamic acid 10 mg/kg twice a day) [54–56].

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using IBM SPSS 26.0 for Windows. Categorical variables were described as absolute (n) and relative (%) frequencies, and quantitative variables as the mean \pm standard deviation (SD) or median and interquartile range (IQR) depending on their distribution, which was assessed by the Shapiro–Wilk test. Stratified analysis by disease stage of the categorical variables was carried out using contingency tables and Pearson’s Chi-square test if less than 20% of expected variables were lower than five; and as an alternative, Fisher’s exact test was used for 2x2 tables and the likelihood ratio test for the rest of the tables. For stratified analysis of the quantitative variables, we used the ANOVA test (for more than two categories, and the Hochberg test as a post hoc test) and Student’s *t*-test (for comparison of two categories). For paired comparison of lesion sizes and glucose levels in different moments, we applied Student’s *t*-test for paired samples. The alpha error was established at 0.05.

3. Results

From 2015 to 2024, 29 dogs underwent percutaneous RFA of pancreatic insulinomas (stage I and II). In 7 of them, regional lymph node metastases were also ablated (stage II). Additionally, in 4 other patients, RFA was performed on hepatic metastases (stage III). In all 29 cases, the surgical approach was evaluated prior to RFA. Lesions were deemed unresectable in 11 of the 25 stage I and II cases and in all 4 cases with liver metastases from insulinomas in which the primary pancreatic lesion had previously been surgically removed. Pancreatic lesions were mainly located in the body or proximal in the right and left lobes, and the liver metastases were intrahepatic, located near the diaphragm or adjacent to the gallbladder. For the remaining patients in stage I and II, the owners refused an open procedure.

The included dog breeds were nine (31%) mongrel dogs, four (14%) West Highland White Terriers, three (10%) French Bulldogs, two (6%) Epagneul Bretons, two (6%) Labrador Retrievers, and one (3.4%) of each of the following breeds: Basque Shepherd, Border collie, Boxer, German Shepherd, Greyhound, Hound, Pitbull, Podenco, Yorkshire Terrier. In 18 (62%) dogs, insulinomas were classified as stage I, in 7 (24%) as stage II, and in 4 (14%) as stage III. The breed, age, sex, reproductive status, body weight (BW), and stage of the dogs are reported in Table 1.

Table 1. Body weight, age, sex, and reproductive status stratified by stage of insulinoma.

Variable	Stage I (n = 18)	Stage II (n = 7)	Stage III (n = 4)	Total (n = 29)
Body weight, median (IQR)	23 (13–43)	14 (10.5–35.5)	24.5 (18.5–25.5)	24 (13–40)
Age, median (IQR)	12 (11–13)	12 (11–12)	10 (9–11.5)	12 (11–12)
Female entire, n (%)	1 (6)	1 (14)	0 (0)	2 (7)
Female neutered, n (%)	6 (33)	3 (43)	1 (25)	10 (34.5)
Male neutered, n (%)	11 (61)	3 (43)	3 (75)	17 (58.5)

All dogs in stage III had previously undergone pancreatectomy and presented with hepatic metastases. In all 29 dogs, cytological analysis of the aspirates demonstrates clusters of cells characteristic of neuroendocrine tissue. These cells exhibit a morphology with free nuclei embedded in the cytoplasm, lacking distinct cell boundaries [1] (Figure 4). Radiofrequency ablation was applied to the pancreatic nodule in stage I patients, to both the nodule and lymph nodes in stage II patients, and to the hepatic lesions in stage III patients.

In all cases, the lesions were identified via ultrasound imaging, and the radiofrequency ablation electrode was then inserted into the target area. Eleven patients in stage I and all patients in stage II and III underwent contrast-enhanced computed tomography scans prior to the procedure. In one stage III patient, contrast-enhanced ultrasound (SonoVue; Bracco, Milan, Italy) was employed to enhance the visualization of the liver metastatic nodules. A single ablation thermosphere was created in both pancreatic and hepatic lesions. However, in lymph node lesions, two overlapping spheres were used in three patients to fully cover the lesion volume without affecting the surrounding tissue.

No major complications were observed during the procedure. No bleeding or perforations were observed. In two patients, one in stage I and one in stage II, the hospitalization period was extended by three days due to the presence of vomiting and abdominal pain, which responded to maropitant and buprenorphine. No free fluid was observed in the abdomen, nor pancreatic oedema or peritoneal reaction. In the first dog, the lesion was localized in the left lobe and in the second in the body of the pancreas. In four (14%) stage I patients, hyporexia and abdominal discomfort were observed in the following days, resolving spontaneously. In the remaining patients, it was an outpatient procedure with discharge within two hours after the RFA.

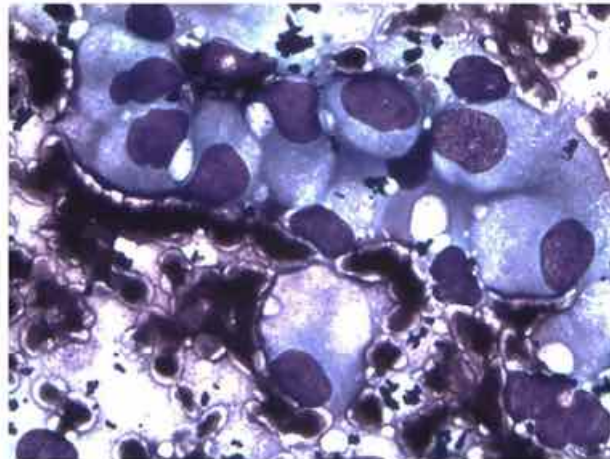


Figure 4. The nucleated cells are arranged in clusters with indistinct cell borders, a pattern typical of neuroendocrine neoplasms. They display mild variations in cell and nuclear size and shape (anisocytosis and anisokaryosis). The nuclei of these cells have a coarsely stippled chromatin pattern without prominent nucleoli. Cytology sample was obtained using a 27G needle and stained with Diff-Quik (magnification 1000 \times).

Two patients died from causes unrelated to the insulinoma or the RFA procedure: one at one month due to the progression of a cardiac condition, and the other at seven months post-treatment due to an orthopedic condition affecting the hind limbs. Both animals were normoglycemic at the time of death. During the average follow-up duration of six months, no recurrence of symptoms was observed in any of the patients classified as stage I or stage II. Among the four patients in stage III, one dog experienced episodes of hypoglycaemia five months after undergoing RFA. The remaining three patients maintained normal blood glucose levels for eight, nine, and thirteen months, respectively, following the procedure. During this period, the remaining patients did not receive any treatment.

Twelve stage I patients were followed up beyond two years after RFA with eight dogs maintaining stable glucose levels, while four progressing to stage II, necessitating repeat RFA procedures to manage their glycemic status. Notably, one patient within this cohort required three RFA interventions during the 2-year timeframe but was documented to be normoglycemic at the time of manuscript writing. Prior to each procedure, corticosteroids were administered to all twelve patients to aid in glycemic control, with treatments discontinued once glycemic control was achieved through RFA. Additionally, four of the twelve received continuous toceranib treatment from the onset of the first hypoglycemic event.

The location and evolution of the size and ultrasound appearance of all pancreatic lesions are described in Table 2.

All the pancreatic lesions were rounded in shape, where 11 (44%) were located in the left lobe, 7 (28%) in the right lobe, and 7 (28%) in the body of the pancreas. The mean \pm SD size of the pancreatic lesions was 15.9 ± 5 mm. The appearance of pancreatic insulinomas on B-mode ultrasonography was variable, with seventeen of them (68%) being markedly hypoechoic and seven (32%) slightly hypoechoic compared to the surrounding tissue (Figure 3). The lymph nodes all had a markedly hypoechoic echogenicity. Three liver metastases (37.5%) were slightly hypoechoic, while five (62.5%) were hyperechoic.

Table 2. Location, size, and ultrasonographic appearance of the pancreatic lesions before and after RFA.

Variable		Stage I (n = 18)	Stage II (n = 7)	Total (n = 25)	p-Value
Lesion location	Left lobe, n (%)	6 (33)	5 (71)	11 (44)	0.047 ^{LR}
	Right lobe, n (%)	7 (39)	0 (0)	7 (28)	
	Body, n (%)	5 (28)	2 (29)	7 (28)	
US echogenicity pre-RFA	Hypoechoic, n (%)	12 (67)	5 (71)	17 (68)	>0.999 ^F
	Slightly hypoechoic, n (%)	6 (33)	2 (29)	8 (32)	
Lesion size (mm)	Pre RFA, mm, mean (SD)	15.5 (4.8)	17 (6)	15.9 (5)	0.523 ^t
	Post 1 month, mm, mean (SD)	12.6 (6.7)	13 (7.6)	12.7 (6.8)	0.901 ^t
	Post 6 months, mm, mean (SD)	11.9 (6.4)	12.4 (7.5)	12.0 (6.6)	0.858 ^t
	p-value pre vs. 1 mo	0.022 ^{t2}	0.298 ^{t2}	0.017 ^{t2}	
	p-value 1 mo. vs. 6 mo	0.003 ^{t2}	0.172 ^{t2}	0.001 ^{t2}	
	p-value pre vs. 6 mo	0.005 ^{t2}	0.231 ^{t2}	0.004 ^{t2}	

^{LR}: Significance of test of likelihood ratio; ^F: Significance of Fisher’s exact test; ^t: Significance of Student’s *t*-test for independent samples; ^{t2}: Significance of Student’s *t*-test for paired samples.

Immediately after the RFA, the pancreatic lesions showed an increase in echogenicity and an echogenic halo around the lesion as large as or larger than the treated tumor [46]. No microV-Doppler signal was observed within any of the treated lesions. At the 1-month and 6-month follow-ups, the echogenic halo had disappeared, but the increase in lesion echogenicity and the lack of vascularization persisted. Although there was a global significant decrease in the mean ± SD size of the pancreatic lesions from 15.9 ± 5 mm to 12.7 ± 6.8 mm at 1 month and 12.0 ± 6.6 mm at 6 months, this statistical significance disappeared in dogs in stage II (Table 2).

Before RFA, the metastatic lymph nodes all had a markedly hypoechoic, rounded-to-lobular appearance with a median (IQR) length of 17 (12–20) mm and a median (IQR) height of 17 (12–19) mm. All treated lymph nodes appeared with an increase in echogenicity and a hyperechoic halo immediately after the RFA. Although the hyperechoic halo disappeared at the first check-up, the increase in echogenicity was maintained at both one-month and six-month follow-ups. No significant decrease in lymph node size (*p* > 0.05) was observed during the follow-ups [median (IQR) length and height at 1-month post-RFA 16 (13–20) and 15 (10–20), respectively; median (IQR) length and height at 6-month post-RFA 17 (13–20) and 15 (12–20), respectively]. Liver metastases were rounded, ranging from slightly hypoechoic in three (37.5%) cases to hyperechoic in five (62.5%), and variable in size ranging from 11 to 21 mm with a mean ± SD diameter of 16 ± 4 mm. The ablated liver lesions became more echogenic post-RFA. At the remaining follow-ups, the lesions had a hyperechoic to mixed echogenicity appearance.

The serum glucose and insulin values before treatment and the evolution of glycaemia at the follow-ups are described in Table 3.

In all patients, biological improvement occurred immediately, straight after the procedure. The mean ± SD glucose levels increased significantly after the procedure in all of the patients (40.5 ± 7.2 mg/dL pre-RFA; 129.1 ± 17.6 mg/dL post-RFA). This significant increase occurred in all patients in stage I, as well as those in stage II and stage III. However, the glucose levels of patients in stage III post-RFA were significantly lower than those achieved in patients in stages I and II (Table 3). By the six-month follow-up, glycemic control had been achieved in all patients (101 ± 7.7 mg/dL at one month; 94.6 ± 10.7 mg/dL at six months) who completed the study, apart from one individual in stage III who exhibited persistent hypoglycemia at the final evaluation (59 mg/dL).

Table 3. The serum glucose and insulin values before treatment and the evolution of blood glucose in the post-RFA follow-up controls.

Variable	Stage I (n = 18 *)	Stage II (n = 7)	Stage III (n = 4)	Total (n = 29)	p-Value
Insulin Pre RFA, $\mu\text{U/mL}$, mean (SD)	29.1 (5.3)	29.9 (6.8)	30.2 (5.9)	29.4 (5.6)	0.917 ^A
Pre RFA, mg/dL, mean (SD)	39.6 (7.8)	39.3 (3.8)	46.7 (7.4)	40.5 (7.2)	0.181 ^A
Post RFA, mg/dL, mean (SD)	134.5 (14.6) ^a	128.9 (8.9) ^a	105 (21.1) ^b	129.1 (17.6)	0.006 ^A
Post 1 month, mg/dL, mean (SD)	100.1 (7.2)	103.4 (7.5)	94 (8.5)	101 (7.7)	0.153 ^A
Post 6 months, mg/dL, mean (SD)	95.7 (9.1)	97.4 (7.3)	85.2 (18.4)	94.6 (10.7)	0.155 ^A
Glucose	p-value pre vs. post	<0.001 ¹²	<0.001 ¹²	0.018 ¹²	<0.001 ¹²
	p-value pre vs. 1 mo	<0.001 ¹²	<0.001 ¹²	0.007 ¹²	<0.001 ¹²
	p-value pre vs. 6 mo	<0.001 ¹²	<0.001 ¹²	0.050 ¹²	<0.001 ¹²
	p-value post vs. 1 mo	<0.001 ¹²	0.001 ¹²	0.345 ¹²	<0.001 ¹²
	p-value post vs. 6 mo	<0.001 ¹²	<0.001 ¹²	0.127 ¹²	<0.001 ¹²
	p-value 1 mo vs. 6 mo	0.049 ¹²	0.066 ¹²	0.213 ¹²	0.002 ¹²

^A: Significance of ANOVA test (different superindexes in the same row indicate significative differences according to the Hochberg test); ¹²: Significance of Student's *t*-test for paired samples. * *n* = 17 for glucose levels at 1 and 6 months post-RFA (1 dead animal).

4. Discussion

Thermal ablation modalities have emerged as a safe and potentially curative treatment option for tumors in various organs, including the liver, lung, and kidney [46]. In veterinary medicine, their role in tumors of various origins has been documented in several recent reports [57–63] and experimental studies in animals have shown that RFA of pancreatic tissue is feasible [64,65]. However, human practitioners were previously hesitant to use RFA for pancreatic lesions due to concerns about adverse effects like thermal injury-induced pancreatitis and thermal damage to the surrounding structures. Additionally, there were technical limitations with the imaging modalities and radiofrequency electrodes used [46,66–68]. Over the past decade, these challenges have been overcome through advancements in ultrasound resolution and the availability of smaller needle electrodes [46]. As a result, RFA, including percutaneous, endoscopic, and intraoperative approaches, is now considered a feasible, safe, and effective option for patients with insulinomas who are unable or unwilling to undergo surgical resection [6,14–16,20,23–30,32,33,35–43,46–49,68–70]. This study demonstrates that percutaneous ultrasound-guided RFA is an effective and safe procedure for treating insulinomas and their metastases in dogs, potentially offering a new alternative approach for managing neuroendocrine pancreatic tumors. The reported overall survival rates for the surgical management of insulinomas in dogs have been variable, ranging from 12.4 to 65.4 months [4,7,10,11]. In recent years, the prognosis for canine insulinomas has shown notable improvement compared to previous research findings [4,6,10]. This enhancement may be attributed to several factors, including earlier diagnosis, improved surgical case selection, improvements in surgical technique, and superior postoperative care [10]. In contrast, non-surgical patients managed solely with medical treatment have demonstrated shorter survival times, ranging from 2.4 to 6.5 months, according to various studies [1,4,7,10,11]. While the combination of surgical and medical treatments, as well as the use of toceranib phosphate, has been shown to increase survival times [10,12,13], the reduction in tumor burden through surgery remains a key component of the therapeutic approach [1,2,4–7,10]. In cases where surgical intervention is not feasible due to the location and/or progression of the disease or the preferences of the owner, RFA therapy should be considered as a viable alternative. Moreover, RFA is fully compatible with the use of medical treatments or surgical approaches. In human medicine, combined therapeutic strategies have been documented [6,71,72]. Even if incomplete ablation was observed after the percutaneous procedure, the ablation could be completed with an intraoperative RFA procedure [46]. Owing to the favorable safety profile observed in the study and the significant increase in morbidity for dogs in stages II and III as reported by Cleland et al. [4],

RFA could be a viable adjunctive therapy to be applied during surgery following pancreatectomy, to address metastatic lesions. The percutaneous approach for RFA has also been reported in the human medicine literature [46]. However, the endoscopic approach, which involves the use of endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation (EUS-RFA), has been the subject of a greater number of studies [15,23,24,30,35–38,40,43,47,48]. Furthermore, in comparison to surgical intervention, EUS-RFA appears to be a safer and more highly effective treatment approach for insulinomas [32]. In the veterinary context, the use of this technique has only been described as a diagnostic tool [73], and it currently faces the limitation of requiring custom-built electrodes [46].

Ultrasonographic examination and glycemia were used for diagnostic assessment and monitoring. While ultrasonography is acknowledged as an operator-dependent technique, and factors such as patient body composition and cooperation can impact its interpretation [46], it remains the most widely utilized diagnostic imaging modality for the assessment of the canine pancreas [3]. Insulinomas appear on ultrasonography as either spherical or lobular and hypoechoic compared to the surrounding tissues and may also be useful in detecting metastatic lesions in different organs and lymph nodes [1]. The area of tissue damage induced by RFA can be observed as a hyperechoic zone on ultrasonography [46], and it has been shown that fibrosis and scarring gradually replace the necrotic zone created by the procedure [74,75]. Although the primary objective was glycemic control, RFA achieved a significant reduction in the ultrasonographic size of the lesions. This difference, observed in stage I patients and in the overall cohort of dogs, was not present in stage II patients. The tumoral architecture in these more advanced tumors, possibly with increased vascularization or a higher fibrous component, may explain the lack of structural retraction following radiofrequency treatment in these cases. The necrosis was assessed using B-mode ultrasonography, and the absence of vasculature by means of microV technology; future studies will require better real-time delineation of the necrotic area using CEUS or contrast-enhanced CT as reported in human patients [3,8,31,46].

Intraoperative monitoring of blood glucose levels seems to be an effective means of assessing disease burden, with the achievement of normoglycemia or hyperglycemia following the procedure being a robust indicator of ongoing biological activity. This approach has been highlighted in multiple studies as an effective technique for monitoring disease status and as a prognostic factor [76,77]. In fact, persistent hypoglycemia in the postoperative period warrants a potentially guarded prognosis and usually indicates the presence of unrecognized tumors, metastases, and/or incompletely resected masses [1] or incomplete ablation in an RFA procedure. Indeed, for patients in stage III with larger hepatic metastases compared to the primary lesions in other patients, the post-RFA glucose levels achieved were statistically lower than in patients in stages I and II. This result may be attributed to the larger tumor burden present in these stage III patients, as well as the proximity of the tumors to larger blood vessels. As the size of hepatic lesions increases, the probability of their proximity to a major portal vessel or hepatic vein also rises. The blood flow produces the so-called “shrink effect,” which reduces the temperature at the lesion’s periphery, thereby decreasing the effectiveness of the procedure [20].

In our study, the use of ultrasonography and intra-RFA glucose monitoring achieved normoglycemia or hyperglycemia in 100% of the patients, whereas in a surgical study with 51 patients, 80% resolution of hypoglycemia was achieved [77]. Ultrasound examination of the echogenic characteristics of the pancreatic tissue, lymph nodes, and liver may have provided a more comprehensive assessment than is possible with surgical approaches alone.

Complications arising from the selected methodology are a relevant point to consider. Major complications were defined as those that threatened the patient’s life, caused significant harm, or prolonged the hospital stay [78]. Acute pancreatitis is a significant complication following pancreatic surgery, with an incidence rate of approximately 10% in dogs undergoing insulinoma resection [11,77]. The higher incidence of postoperative complications observed in surgical approaches may be attributed to the aggressive nature of the procedures, involving extensive manipulation of the pancreas to remove primary

tumors and locoregional metastases. This extensive surgical intervention predisposes the patients to an increased risk of developing pancreatitis [79,80]. Inappetence and vomiting postoperatively occurred in 27.3% and 24.2% of 33 dogs that underwent surgery for the removal of insulinomas [81]. Another relevant adverse issue associated with surgical procedures is persistent diabetes mellitus; Del Busto et al. (2020) reported that postoperative hyperglycemia was identified in 33% of dogs after the resection of their insulinomas, of which 19% developed persistent diabetes mellitus [11]. Additional rare complications that have been documented following pancreatectomy or mastectomy for insulinomas include cardiac arrhythmias, hemorrhage, sepsis, leukopenia, cardiac arrest, and episodes of syncope [1,11,77]. Many of these complications are associated with elevated potassium levels. Insulin facilitates the entry of glucose into cells, which simultaneously pulls potassium into the cells. Following pancreatectomy, the abrupt decrease in insulin can result in hyperkalemia [82].

Percutaneous RFA of insulinomas is technically challenging, primarily due to the difficulty of accurately positioning the electrode tip within the tumor. This positioning is critical, as errors can lead to severe complications. Furthermore, the hyperechoic signal corresponding to the electrode tip during ultrasound-guided insertion can be obscured by omental fat. Overcoming these technical challenges requires the expertise and extensive experience of well-trained operators proficient in conducting interventional ultrasound-guided procedures [46]. This preliminary study, with a limited scope, found that RFA of insulinomas did not result in any deaths but was not without complications. Hypoxemia and abdominal discomfort were observed in 14% of the patients, similar to findings reported in the human medical literature [46]. Moreover, no patient developed diabetes mellitus. Therefore, the RFA approach appears to have far fewer side effects than those described in surgical approaches, which is consistent with a recent study in human medicine comparing RFA to surgery [32]. Major complications reported in the literature, such as bowel wall perforation, abdominal bleeding, or bile peritonitis, were not encountered in this study [70,83].

The present report has several limitations. Cytopathology rather than histopathology was used as the reference standard for the classification of the lesions. Ultrasound-guided fine-needle aspirate cytology is a relatively noninvasive tool to support a diagnosis of insulinoma [8,84]. Cytopathology is reported as having a good correlation with histopathology, especially in pathological samples [3], with an overall lower complication rate due to the lower invasiveness of the sampling procedure [80,84]. While all included patients presented with masses, compatible cytological findings, low glucose levels, and clinical signs consistent with insulinoma, alternative causes of hypoglycemia were systematically excluded. Aside from insulinoma, common differential diagnoses of hypoglycemia include spurious laboratory results, hypoadrenocorticism, hepatic insufficiency, portosystemic shunts, sepsis, and nonpancreatic neoplasia producing incompletely processed insulin-like growth factors (e.g., hepatocellular carcinoma, leiomyosarcoma, and metastatic mammary carcinoma and lymphoma) [6,85,86]. Less common differential diagnoses are juvenile hypoglycemia, hunting dog hypoglycemia, pregnancy hypoglycemia, growth hormone deficiency, starvation, malnutrition, glycogen storage disease, glucagon deficiency, and nesidioblastosis. Finally, the iatrogenic causes of hypoglycemia include the administration of drugs like insulin and sulfonylurea [6,87–89]. Another limitation, as mentioned previously, was the lack of CEUS application after RFA. This could be helpful in assessing the early treatment response after ablation and targeting residual viable tumors during additional ablation sessions. Nonetheless, in a study with 10 human patients, using the same material and a similar RFA algorithm, they achieved, at the end of the procedures, thermal necrosis of the entire tumor mass in all cases [46]. Finally, another limitation was the lack of long-term follow-up. The prognosis of dogs diagnosed with insulinomas can be assessed in two ways: evaluating the length of euglycemia, which reflects the control of clinical signs, and the overall survival time [1]. Since the objective of this study was to assess the safety of the technique and the clinical evolution during six months of follow-up

examinations, a survival study was not set up. This will be carried out in the future by increasing the follow-up time. Moreover, integrative studies involving larger cohorts and longer follow-up periods will be essential to solidify the positioning of RFA as a viable treatment modality for insulinomas in dogs.

5. Conclusions

Thermal ablation may offer a novel and alternative treatment strategy for managing insulinomas and their metastases to lymph nodes. In cases of oligometastatic liver disease with non-surgical lesions involving multiple lobes, this technique could potentially serve as an effective cytoreductive approach. The study demonstrated rapid clinical improvement following RFA, as evidenced by changes in the sonographic appearance of the tumor and normalization of blood glucose levels, without any major post-procedural complications. Although further research is needed to fully understand the role of RFA, either as a primary treatment or in combination with other modalities, the initial findings are encouraging. The authors recommend considering RFA as part of a multimodal approach to managing insulinomas.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ani14223301/s1>. Video S1: This video illustrates the ultrasound-guided positioning and deployment of the LeVein electrode within lesions of the pancreas, lymph nodes, and liver.

Author Contributions: Conceptualization, M.D.A., P.G.O., A.C.; methodology, M.D.A., P.G.O., T.F.; software, I.d.B., L.G.; validation, I.R.-P., B.B.; formal analysis, I.d.B., L.G.; investigation, P.G.O., M.D.A., T.F.; resources, M.D.A., I.d.B., P.G.O., A.C., F.C., L.G., B.B., I.R.-P., T.F.; data curation, P.G.O., A.C., I.d.B., F.C.; writing—original draft preparation, P.G.O., A.C.; writing—review and editing, M.D.A., I.d.B., P.G.O., A.C., F.C., L.G., B.B., I.R.-P., T.F. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The Advisory Ethics Committee for Animal Experimentation of the University of Zaragoza reviewed and approved the procedures performed. Ref. PI55/24 NE. As the study falls outside the scope of RD 53/2013 (Directive 2010/63/EU), as it pertains to a clinical study, informed consent was obtained from all guardians of the animals involved.

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all guardians of the dogs included in this study.

Data Availability Statement: The original data presented in the study are openly available in FigShare at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.27619074.v1>.

Conflicts of Interest: María Dolores Alférez and Pablo Gómez-Ochoa are employees of VetCorner Unavets, and Telmo Fernandes is an employee of Imaginologia Veterinaria do Porto, which provided radiofrequency ablation services. The other authors have no competing interests.

References

1. Goutal, C.M.; Brugmann, B.L.; Ryan, K.A. Insulinoma in dogs: A review. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **2012**, *48*, 151–163. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Aupperle-Lellbach, H.; Torner, K.; Staudacher, M.; Muller, E.; Steiger, K.; Klopffleisch, R. Characterization of 22 Canine Pancreatic Carcinomas and Review of Literature. *J. Comp. Pathol.* **2019**, *173*, 71–82. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Burti, S.; Zotti, A.; Rubini, G.; Orlandi, R.; Bargellini, P.; Bonsembiante, F.; Contiero, B.; Banzato, T. Contrast-enhanced ultrasound features of focal pancreatic lesions in dogs. *Vet. Rec.* **2022**, *191*, e2080. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Cleland, N.T.; Morton, J.; Delisser, P.J. Outcome after surgical management of canine insulinoma in 49 cases. *Vet. Comp. Oncol.* **2021**, *19*, 428–441. [[CrossRef](#)]
5. Keulen, J.N.P.; van Nimwegen, S.A. Laparoscopic partial pancreatectomy through an advanced lateral approach as treatment for insulinoma in dogs: A case series. *Front. Vet. Sci.* **2023**, *10*, 1278218. [[CrossRef](#)]
6. Buishand, F.O. Current Trends in Diagnosis, Treatment and Prognosis of Canine Insulinoma. *Vet. Sci.* **2022**, *9*, 540. [[CrossRef](#)]

7. Ryan, D.; Perez-Accino, J.; Goncalves, R.; Czopowicz, M.; Bertolani, C.; Tabar, M.D.; Puig, J.; Ros, C.; Sunol, A. Clinical findings, neurological manifestations and survival of dogs with insulinoma: 116 cases (2009–2020). *J. Small Anim. Pract.* **2021**, *62*, 531–539. [[CrossRef](#)]
8. Robben, J.H.; Pollak, Y.W.; Kirpensteijn, J.; Boroffka, S.A.; van den Ingh, T.S.; Teske, E.; Voorhout, G. Comparison of ultrasonography, computed tomography, and single-photon emission computed tomography for the detection and localization of canine insulinoma. *J. Vet. Intern. Med.* **2005**, *19*, 15–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Capodanno, Y.; Altieri, B.; Elders, R.; Colao, A.; Faggiano, A.; Schrader, J. Canine insulinoma as a model for human malignant insulinoma research: Novel perspectives for translational clinical studies. *Transl. Oncol.* **2022**, *15*, 101269. [[CrossRef](#)]
10. Polton, G.A.; White, R.N.; Brearley, M.J.; Eastwood, J.M. Improved survival in a retrospective cohort of 28 dogs with insulinoma. *J. Small Anim. Pract.* **2007**, *48*, 151–156. [[CrossRef](#)]
11. Del Busto, I.; German, A.J.; Treggiari, E.; Romanelli, G.; O’Connell, E.M.; Batchelor, D.J.; Silvestrini, P.; Murtagh, K. Incidence of postoperative complications and outcome of 48 dogs undergoing surgical management of insulinoma. *J. Vet. Intern. Med.* **2020**, *34*, 1135–1143. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Flesner, B.K.; Fletcher, J.M.; Smithee, T.; Boudreaux, B. Long-Term Survival and Glycemic Control with Toceranib Phosphate and Prednisone for a Metastatic Canine Insulinoma. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **2019**, *55*, e55105. [[CrossRef](#)]
13. Sheppard-Olivares, S.; Bello, N.M.; Johannes, C.M.; Hocker, S.E.; Biller, B.; Husbands, B.; Snyder, E.; McMillan, M.; McKee, T.; Wouda, R.M. Toceranib phosphate in the management of canine insulinoma: A retrospective multicentre study of 30 cases (2009–2019). *Vet. Rec. Open* **2022**, *9*, e27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Chernykh, T.M.; Malyugin, D.A.; Khachaturov, M.V.; Shefer, A.A.; Zolodov, V.I. Current views on the treatment of insulinoma. *Probl. Endokrinol.* **2024**, *70*, 46–55. [[CrossRef](#)]
15. Matsumoto, K.; Kato, H. Endoscopic ablation therapy for the pancreatic neoplasms. *Dig. Endosc.* **2023**, *35*, 430–442. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. El Sayed, G.; Frim, L.; Franklin, J.; McCrudden, R.; Gordon, C.; Al-Shamma, S.; Kiss, S.; Hegyi, P.; Eröss, B.; Hegyi, P.J. Endoscopic ultrasound-guided ethanol and radiofrequency ablation of pancreatic insulinomas: A systematic literature review. *Therap. Adv. Gastroenterol.* **2021**, *14*, 17562848211042171. [[CrossRef](#)]
17. Qin, S.Y.; Lu, X.P.; Jiang, H.X. EUS-guided ethanol ablation of insulinomas: Case series and literature review. *Medicine* **2014**, *93*, e85. [[CrossRef](#)]
18. Chen, O.T.; Dojki, F.K.; Weber, S.M.; Hinshaw, J.L. Percutaneous Microwave Ablation of an Insulinoma in a Patient with Refractory Symptomatic Hypoglycemia. *J. Gastrointest. Surg.* **2015**, *19*, 1378–1381. [[CrossRef](#)]
19. Levy, M.J.; Thompson, G.B.; Topazian, M.D.; Callstrom, M.R.; Grant, C.S.; Vella, A. US-guided ethanol ablation of insulinomas: A new treatment option. *Gastrointest. Endosc.* **2012**, *75*, 200–206. [[CrossRef](#)]
20. Rombouts, S.J.; Vogel, J.A.; van Santvoort, H.C.; van Lienden, K.P.; van Hilleegersberg, R.; Busch, O.R.; Besselink, M.G.; Molenaar, I.Q. Systematic review of innovative ablative therapies for the treatment of locally advanced pancreatic cancer. *Br. J. Surg.* **2015**, *102*, 182–193. [[CrossRef](#)]
21. Singh, S.; Melnik, R. Thermal ablation of biological tissues in disease treatment: A review of computational models and future directions. *Electromagn. Biol. Med.* **2020**, *39*, 49–88. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Ellis, L.M.; Curley, C.A.; Tanabe, K.K. *Radiofrequency Ablation: Current Indications, Techniques and Outcomes*; Springer: New York, NY, USA, 2004; Volume 242.
23. Armellini, E.; Facciorusso, A.; Crinò, S.F. Efficacy and Safety of Endoscopic Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation for Pancreatic Neuroendocrine Tumors: A Systematic Review and Metaanalysis. *Medicina* **2023**, *59*, 359. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Fahmawi, Y.; Mehta, A.; Abdalhadi, H.; Merritt, L.; Mizrahi, M. Efficacy and safety of endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation for management of pancreatic lesions: A systematic review and meta-analysis. *Transl. Gastroenterol. Hepatol.* **2022**, *7*, 30. [[CrossRef](#)]
25. Alyusuf, E.Y.; Ekhzaimy, A.A.; Rivera, J.A. Radiofrequency Ablation as a Primary Therapy for Benign Functioning Insulinoma. *AACE Clin. Case Rep.* **2021**, *7*, 153–157. [[CrossRef](#)]
26. Biermann, M.R.; Sundar, P.; Veeramachaneni, H.; Chawla, S.; Patel, V.; Orr, J.; Keilin, S.; Willingham, F.F. Radiofrequency ablation for the management of symptomatic pancreatic insulinomas. *VideoGIE* **2024**, *9*, 45–50. [[CrossRef](#)]
27. Borrelli de Andreis, F.; Boškoski, I.; Mascagni, P.; Schepis, T.; Bianchi, A.; Schinzari, G.; Annicchiarico, B.E.; Quero, G.; Tortora, G.; Alfieri, S.; et al. Safety and efficacy of endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation for pancreatic insulinoma: A single-center experience. *Pancreatol.* **2023**, *23*, 543–549. [[CrossRef](#)]
28. Brauer, B.C. Intraductal Radiofrequency Ablation (RFA) for Pancreatic Cancer: Getting in Under the Wire? *Dig. Dis. Sci.* **2015**, *60*, 3160–3161. [[CrossRef](#)]
29. Burns, W.R.; Edil, B.H. Neuroendocrine pancreatic tumors: Guidelines for management and update. *Curr. Treat. Options Oncol.* **2012**, *13*, 24–34. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Choi, J.H.; Seo, D.W.; Song, T.J.; Park, D.H.; Lee, S.S.; Lee, S.K.; Kim, M.H. Endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation for management of benign solid pancreatic tumors. *Endoscopy* **2018**, *50*, 1099–1104. [[CrossRef](#)]
31. Choi, J.H.; Seo, D.W.; Song, T.J.; Park, D.H.; Lee, S.S.; Lee, S.K.; Kim, M.H. Utility of Contrast-Enhanced Harmonic Endoscopic Ultrasound for the Guidance and Monitoring of Endoscopic Radiofrequency Ablation. *Gut Liver* **2020**, *14*, 826–832. [[CrossRef](#)]

32. Crinò, S.F.; Napoleon, B.; Facciorusso, A.; Lakhtakia, S.; Borbath, I.; Caillol, F.; Do-Cong Pham, K.; Rizzatti, G.; Forti, E.; Palazzo, L.; et al. Endoscopic Ultrasound-guided Radiofrequency Ablation Versus Surgical Resection for Treatment of Pancreatic Insulinoma. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2023**, *21*, 2834–2843.e2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Crinò, S.F.; Partelli, S.; Napoleon, B.; Conti Bellocchi, M.C.; Facciorusso, A.; Salvia, R.; Forti, E.; Cintolo, M.; Mazzola, M.; Ferrari, G.; et al. Study protocol for a multicenter randomized controlled trial to compare radiofrequency ablation with surgical resection for treatment of pancreatic insulinoma. *Dig. Liver Dis.* **2023**, *55*, 1187–1193. [[CrossRef](#)]
34. Debraine, Z.; Borbath, I.; Deprez, P.; Bosly, F.; Maiter, D.; Furnica, R.M. Long-term clinical and radiological outcomes of endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation of benign insulinomas. *Clin. Endocrinol.* **2023**, *101*, 485–490. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Dhar, J.; Samanta, J.; Nabi, Z.; Aggarwal, M.; Facciorusso, A.; Conti Bellocchi, M.C.; Crinò, S.F. Endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation of pancreatic insulinoma: A state of the art review. *Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **2024**, *18*, 37–53. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Furnica, R.M.; Deprez, P.; Maiter, D.; Vandeleene, B.; Borbath, I. Endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation: An effective and safe alternative for the treatment of benign insulinoma. *Ann. Endocrinol.* **2020**, *81*, 567–571. [[CrossRef](#)]
37. Imperatore, N.; de Nucci, G.; Mandelli, E.D.; de Leone, A.; Zito, F.P.; Lombardi, G.; Manes, G. Endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation of pancreatic neuroendocrine tumors: A systematic review of the literature. *Endosc. Int. Open* **2020**, *8*, E1759–E1764. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Jonica, E.R.; Wagh, M.S. Endoscopic treatment of symptomatic insulinoma with a new EUS-guided radiofrequency ablation device. *VideoGIE* **2020**, *5*, 483–485. [[CrossRef](#)]
39. Lakhtakia, S.; Ramchandani, M.; Galasso, D.; Gupta, R.; Venugopal, S.; Kalpala, R.; Reddy, D.N. EUS-guided radiofrequency ablation for management of pancreatic insulinoma by using a novel needle electrode (with videos). *Gastrointest. Endosc.* **2016**, *83*, 234–239. [[CrossRef](#)]
40. Lesmana, C.R.A. Endoscopic loco-regional treatment in controlling pancreatic neuroendocrine tumors (PNETs) behavior: A case series and literature review. *Clin. J. Gastroenterol.* **2024**, *17*, 754–759. [[CrossRef](#)]
41. Limmer, S.; Huppert, P.E.; Juette, V.; Lenhart, A.; Welte, M.; Wietholtz, H. Radiofrequency ablation of solitary pancreatic insulinoma in a patient with episodes of severe hypoglycemia. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2009**, *21*, 1097–1101. [[CrossRef](#)]
42. Marx, M.; Trosic-Ivanisevic, T.; Caillol, F.; Demartines, N.; Schoepfer, A.; Pesenti, C.; Ratone, J.P.; Robert, M.; Giovannini, M.; Godat, S. EUS-guided radiofrequency ablation for pancreatic insulinoma: Experience in 2 tertiary centers. *Gastrointest. Endosc.* **2022**, *95*, 1256–1263. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Pai, M.; Habib, N.; Senturk, H.; Lakhtakia, S.; Reddy, N.; Cicinnati, V.R.; Kaba, I.; Beckebaum, S.; Drymoussis, P.; Kahaleh, M.; et al. Endoscopic ultrasound guided radiofrequency ablation, for pancreatic cystic neoplasms and neuroendocrine tumors. *World J. Gastrointest. Surg.* **2015**, *7*, 52–59. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Pandya, G.J.; Shelat, V.G. Radiofrequency ablation of pancreatic ductal adenocarcinoma: The past, the present and the future. *World J. Gastrointest. Oncol.* **2015**, *7*, 6–11. [[CrossRef](#)]
45. Procházka, V.; Hlavša, J.; Andrašina, T.; Starý, K.; Můčková, K.; Kala, Z.; Válek, V. Laparoscopic radiofrequency ablation of functioning pancreatic insulinoma: Video case report. *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan Tech.* **2012**, *22*, e312–e315. [[CrossRef](#)]
46. Rossi, S.; Viera, F.T.; Ghittoni, G.; Cobianchi, L.; Rosa, L.L.; Siciliani, L.; Bortolotto, C.; Veronese, L.; Vercelli, A.; Gallotti, A.; et al. Radiofrequency ablation of pancreatic neuroendocrine tumors: A pilot study of feasibility, efficacy, and safety. *Pancreas* **2014**, *43*, 938–945. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Rustagi, T.; Chhoda, A. Endoscopic Radiofrequency Ablation of the Pancreas. *Dig. Dis. Sci.* **2017**, *62*, 843–850. [[CrossRef](#)]
48. Younis, F.; Ben-Ami Shor, D.; Lubezky, N.; Geva, R.; Osher, E.; Shibolet, O.; Phillips, A.; Scapa, E. Endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation of premalignant pancreatic-cystic neoplasms and neuroendocrine tumors: Prospective study. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2022**, *34*, 1111–1115. [[CrossRef](#)]
49. Zhang, L.; Tan, S.; Huang, S.; Zhong, C.; Lü, M.; Peng, Y.; Tang, X. The safety and efficacy of endoscopic ultrasound-guided ablation therapy for solid pancreatic tumors: A systematic review. *Scand. J. Gastroenterol.* **2020**, *55*, 1121–1131. [[CrossRef](#)]
50. Idowu, O.; Heading, K. Hypoglycemia in dogs: Causes, management, and diagnosis. *Can. Vet. J.* **2018**, *59*, 642–649.
51. Wood, B.J.; Abraham, J.; Hvizda, J.L.; Alexander, H.R.; Fojo, T. Radiofrequency ablation of adrenal tumors and adrenocortical carcinoma metastases. *Cancer* **2003**, *97*, 554–560. [[CrossRef](#)]
52. Jiang, B.; Zhao, K.; Yan, K.; Wang, S.; Meng, Y.; Liu, B.; Wu, H.; Wang, H. Percutaneous radiofrequency ablation near large vessels in beagle livers: The impact of time and distance on the ablation zone. *Int. J. Hyperthermia* **2021**, *38*, 1263–1270. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Goldberg, S.N.; Gazelle, G.S.; Compton, C.C.; Mueller, P.R.; Tanabe, K.K. Treatment of intrahepatic malignancy with radiofrequency ablation: Radiologic-pathologic correlation. *Cancer* **2000**, *88*, 2452–2463. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Marin, L.M.; Iazbik, M.C.; Zaldivar-Lopez, S.; Guillaumin, J.; McLoughlin, M.A.; Couto, C.G. Epsilon aminocaproic acid for the prevention of delayed postoperative bleeding in retired racing greyhounds undergoing gonadectomy. *Vet. Surg.* **2012**, *41*, 594–603. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Fletcher, D.J.; Blackstock, K.J.; Epstein, K.; Brainard, B.M. Evaluation of tranexamic acid and epsilon-aminocaproic acid concentrations required to inhibit fibrinolysis in plasma of dogs and humans. *Am. J. Vet. Res.* **2014**, *75*, 731–738. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

56. Faraoni, D.; Willems, A.; Melot, C.; De Hert, S.; Van der Linden, P. Efficacy of tranexamic acid in paediatric cardiac surgery: A systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* **2012**, *42*, 781–786. [\[CrossRef\]](#)
57. Zhong, C.H.; Fan, M.Y.; Xu, H.; Jin, R.G.; Chen, Y.; Chen, X.B.; Tang, C.L.; Su, Z.Q.; Li, S.Y. Feasibility and Safety of Radiofrequency Ablation Guided by Bronchoscopic Transparenchymal Nodule Access in Canines. *Respiration* **2021**, *100*, 1097–1104. [\[CrossRef\]](#)
58. Locatelli, A.; Treggiari, E.; Innocenti, M.; Romanelli, G. Percutaneous ultrasound-guided microwave ablation for treatment of hepatocellular carcinomas in dogs: Four cases (2019–2020). *J. Small Anim. Pract.* **2022**, *63*, 897–903. [\[CrossRef\]](#)
59. Kawamura, Y.; Itou, H.; Kida, A.; Sunakawa, H.; Kawamura, K. Microwave ablation for the control of bleeding from disintegrated mammary tumours in two dogs. *Vet. Med. Sci.* **2023**, *9*, 1062–1068. [\[CrossRef\]](#)
60. Jia, L.; Bin, H.; Bing, H.; Jin, H. CEUS examination of the outcome of radiofrequency ablation of canine prostate lesions. *Minim. Invasive Ther. Allied Technol.* **2021**, *30*, 334–340. [\[CrossRef\]](#)
61. Hung, A.J.; Ma, Y.; Zehnder, P.; Nakamoto, M.; Gill, I.S.; Ukimura, O. Percutaneous radiofrequency ablation of virtual tumours in canine kidney using Global Positioning System-like technology. *BJU Int.* **2012**, *109*, 1398–1403. [\[CrossRef\]](#)
62. Gomez Ochoa, P.; Alvarez, M.D.; de Blas, I.; Fernandes, T.; Sanchez Salguero, X.; Balana, B.; Melendez Lazo, A.; Barbero Fernandez, A.; Caivano, D.; Corda, F.; et al. Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation of Chemodectomas in Five Dogs. *Animals* **2021**, *11*, 2790. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
63. Chen, W.; Tang, X.; Yang, X.; Weng, C.; Yang, K.; Wen, J.; Liu, H.; Wu, Y. Effects and Mechanisms of Radiofrequency Ablation of Renal Sympathetic Nerve on Anti-Hypertension in Canine. *Arq. Bras. Cardiol.* **2017**, *108*, 237–245. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
64. Date, R.S.; Biggins, J.; Paterson, I.; Denton, J.; McMahan, R.F.; Siriwardena, A.K. Development and validation of an experimental model for the assessment of radiofrequency ablation of pancreatic parenchyma. *Pancreas* **2005**, *30*, 266–271. [\[CrossRef\]](#)
65. Date, R.S.; McMahan, R.F.; Siriwardena, A.K. Radiofrequency ablation of the pancreas. I: Definition of optimal thermal kinetic parameters and the effect of simulated portal venous circulation in an ex-vivo porcine model. *JOP* **2005**, *6*, 581–587.
66. Ito, T.; Lee, L.; Jensen, R.T. Treatment of symptomatic neuroendocrine tumor syndromes: Recent advances and controversies. *Expert. Opin. Pharmacother.* **2016**, *17*, 2191–2205. [\[CrossRef\]](#)
67. Kallis, Y.; Phillips, N.; Steel, A.; Kaltsidis, H.; Vlavianos, P.; Habib, N.; Westaby, D. Analysis of Endoscopic Radiofrequency Ablation of Biliary Malignant Strictures in Pancreatic Cancer Suggests Potential Survival Benefit. *Dig. Dis. Sci.* **2015**, *60*, 3449–3455. [\[CrossRef\]](#)
68. Okabayashi, T.; Shima, Y.; Sumiyoshi, T.; Kozuki, A.; Ito, S.; Ogawa, Y.; Kobayashi, M.; Hanazaki, K. Diagnosis and management of insulinoma. *World J. Gastroenterol.* **2013**, *19*, 829–837. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
69. Miyazawa, K.; Yoshioka, S.; Shiobara, M.; Wakatsuki, K.; Kataoka, M.; Arai, S.; Yamazaki, K. Long-term survival following postoperative combined modality therapy for pancreatic cancer. *Gan Kagaku Ryoho* **2014**, *41*, 2190–2192.
70. Hadjicostas, P.; Malakounides, N.; Varianos, C.; Kitaris, E.; Lerni, F.; Symeonides, P. Radiofrequency ablation in pancreatic cancer. *HPB* **2006**, *8*, 61–64. [\[CrossRef\]](#)
71. Nakayama, A.; Tajima, H.; Kitagawa, H.; Shoji, M.; Nakanuma, S.; Makino, I.; Hayashi, H.; Nakagawara, H.; Miyashita, T.; Takamura, H.; et al. A case report of hepatic arterial infusion chemotherapy and RFA for liver metastasis from pancreatic cancer. *Gan Kagaku Ryoho* **2014**, *41*, 2205–2207.
72. Wang, W.; Seeruttun, S.R.; Fang, C.; Zhou, Z. Comprehensive treatment of a functional pancreatic neuroendocrine tumor with multifocal liver metastases. *Chin. J. Cancer Res.* **2014**, *26*, 501–506. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
73. Gaschen, L.; Kircher, P.; Lang, J. Endoscopic ultrasound instrumentation, applications in humans, and potential veterinary applications. *Vet. Radiol. Ultrasound* **2003**, *44*, 665–680. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
74. Vogt, F.M.; Antoch, G.; Veit, P.; Freudenberg, L.S.; Blechschmid, N.; Diersch, O.; Bockisch, A.; Barkhausen, J.; Kuehl, H. Morphologic and functional changes in nontumorous liver tissue after radiofrequency ablation in an in vivo model: Comparison of 18F-FDG PET/CT, MRI, ultrasound, and CT. *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 1836–1844. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
75. Lesser, T.G.; Ritter, F.; Schlosser, H.; Boltze, C.; Hackenbroich, C. Effects of radiofrequency ablation on normal lung tissue in a swine model. *Acad. Radiol.* **2011**, *18*, 1318–1323. [\[CrossRef\]](#)
76. Collgros, N.C.; Bray, J.P. Blood glucose monitoring during surgery in dogs to assess completeness of surgical resection of insulinoma: 11 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2022**, *261*, 229–236. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
77. Trifonidou, M.A.; Kirpensteijn, J.; Robben, J.H. A retrospective evaluation of 51 dogs with insulinoma. *Vet. Q.* **1998**, *20* (Suppl. S1), S114–S115. [\[CrossRef\]](#)
78. Sacks, D.; McClenny, T.E.; Cardella, J.F.; Lewis, C.A. Society of Interventional Radiology clinical practice guidelines. *J. Vasc. Interv. Radiol.* **2003**, *14*, S199–S202. [\[CrossRef\]](#)
79. Wouters, E.G.; Buisland, F.O.; Kik, M.; Kirpensteijn, J. Use of a bipolar vessel-sealing device in resection of canine insulinoma. *J. Small Anim. Pract.* **2011**, *52*, 139–145. [\[CrossRef\]](#)
80. Pratschke, K.M.; Ryan, J.; McAlinden, A.; McLauchlan, G. Pancreatic surgical biopsy in 24 dogs and 19 cats: Postoperative complications and clinical relevance of histological findings. *J. Small Anim. Pract.* **2015**, *56*, 60–66. [\[CrossRef\]](#)
81. Hixon, L.P.; Grimes, J.A.; Wallace, M.L.; Schmiedt, C.W. Risk factors for gastrointestinal upset and evaluation of outcome following surgical resection of canine pancreatic beta-cell tumors. *Can. Vet. J.* **2019**, *60*, 1312–1318.
82. Wu, Y.; Tang, Z.; Fang, H.; Gao, S.; Chen, J.; Wang, Y.; Yan, H. High operative risk of cool-tip radiofrequency ablation for unresectable pancreatic head cancer. *J. Surg. Oncol.* **2006**, *94*, 392–395. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

83. Brandt, K.R.; Charboneau, J.W.; Stephens, D.H.; Welch, T.J.; Goellner, J.R. CT- and US-guided biopsy of the pancreas. *Radiology* **1993**, *187*, 99–104. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Hiatt, N.; Chapman, L.W.; Davidson, M.B.; Mack, H. Kaluresis independent K-homeostasis: Glucagon and B receptor blockade in pancreatectomized dogs. *Horm. Metab. Res.* **1986**, *18*, 739–742. [[CrossRef](#)]
85. Corder, A.P.; Sharkey, L.C.; Armstrong, P.J.; McAteer, K.D. Cytologic findings and diagnostic yield in 92 dogs undergoing fine-needle aspiration of the pancreas. *J. Vet. Diagn. Investig.* **2015**, *27*, 236–240. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
86. Boari, A.; Barreca, A.; Bestetti, G.E.; Minuto, F.; Venturoli, M. Hypoglycemia in a dog with a leiomyoma of the gastric wall producing an insulin-like growth factor II-like peptide. *Eur. J. Endocrinol.* **1995**, *132*, 744–750. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
87. Zini, E.; Glaus, T.M.; Minuto, F.; Arvigo, M.; Hauser, B.; Reusch, C.E. Paraneoplastic hypoglycemia due to an insulin-like growth factor type-II secreting hepatocellular carcinoma in a dog. *J. Vet. Intern. Med.* **2007**, *21*, 193–195. [[CrossRef](#)]
88. Fernandez, N.J.; Barton, J.; Spotswood, T. Hypoglycemia in a dog. *Can. Vet. J.* **2009**, *50*, 423–426.
89. Polansky, B.J.; Martinez, S.A.; Chalkley, M.D. Resolution of hyperinsulinemic hypoglycemia following partial pancreatectomy in a dog with nesidioblastosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2018**, *253*, 893–896. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

4.3. Ablación por radiofrecuencia percutánea en tumores de quimiodectomas aórticos

Gómez Ochoa P, **Alfárez MD**, de Blas I, Fernandes T, Sánchez Salguero X, Balañá B, Meléndez Lazo A, Barbero Fernandez A, Caivano D, Corda F, Corda A. *Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation of Chemodectomas in Five Dogs*. **Animals**, 2021;11(10):2790. doi: 10.3390/ani11102790.

Este estudio prospectivo evaluó la seguridad, viabilidad y resultados terapéuticos de la RFA guiada por ecografía en el tratamiento de quimiodectomas en perros. La investigación incluyó cinco perros diagnosticados mediante ecocardiografía y citología de quimiodectomas sintomáticos. Los casos seleccionados presentaban signos clínicos graves, como ascitis y colapso.

El procedimiento se realizó bajo anestesia general utilizando un electrodo LeVein de configuración en paraguas, que se posicionó dentro de la masa tumoral bajo guía ecográfica. El protocolo siguió un algoritmo progresivo de potencia hasta alcanzar el punto de *roll-off*, asegurando una ablación completa del tejido afectado. Durante el procedimiento, se monitorizaron variables hemodinámicas para garantizar la estabilidad del paciente y minimizar riesgos.

La evaluación de la respuesta terapéutica se llevó a cabo mediante ecocardiografía a las cuatro semanas post-intervención, observándose una reducción significativa en el tamaño tumoral en todos los casos (rango 64-80 %) y cambios en la textura ecográfica de las masas. Clínicamente, se observó una mejora notable en todos los pacientes, incluyendo la resolución de los colapsos y una reducción de los signos de insuficiencia cardíaca congestiva. No se registraron complicaciones intraoperatorias ni eventos adversos durante el período postoperatorio inmediato.

El seguimiento a largo plazo (6 meses) incluyó a todos los perros tratados, observándose una recurrencia en un caso, que fue manejada con éxito mediante un segundo procedimiento de RFA. Los otros cuatro pacientes permanecieron clínicamente estables, sin evidencia de progresión tumoral ni reaparición de síntomas.

Los resultados obtenidos indican que la RFA guiada por ecografía es una técnica segura y efectiva para el manejo de quimiodectomas en perros, especialmente en aquellos con signos clínicos graves. Esta modalidad terapéutica ofrece una alternativa mínimamente invasiva frente a opciones tradicionales como la cirugía o la radioterapia, permitiendo una mejora clínica rápida y significativa. La RFA se presenta como una herramienta valiosa en el manejo de estas neoplasias de difícil abordaje, especialmente en pacientes con alto riesgo quirúrgico o cuando otros tratamientos no son viables.

Article

Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation of Chemodectomas in Five Dogs

Pablo Gómez Ochoa ^{1,2}, María Dolores Alférez ^{1,*}, Ignacio de Blas ², Telmo Fernandes ³, Xavier Sánchez Salguero ⁴, Beatriz Balañá ⁵, Antonio Meléndez Lazo ⁶, Alicia Barbero Fernández ⁷, Domenico Caivano ^{8,*}, Francesca Corda ⁹ and Andrea Corda ⁹

¹ VetCorner, 50012 Zaragoza, Spain; pablogomezochoa@gmail.com

² Department of Animal Pathology, University of Zaragoza, 50013 Zaragoza, Spain; debias@unizar.es

³ Imaginologia Veterinaria do Porto, 4490-479 Porto, Portugal; insidvetecografia@gmail.com

⁴ Department of Animal Science, School of Agriculture, Food Science and Veterinary Medicine (ETSEA), University of Lleida, 25198 Lleida, Spain; xavier.sanchez@udl.cat

⁵ Hospital Aralar Veterinarios, Cuarte de Huerva, 50410 Zaragoza, Spain; bboncovet@gmail.com

⁶ T-CITO, 46018 Valencia, Spain; contacto@t-cito.com

⁷ Department of Veterinary Medicine, University Alfonso X el Sabio, Villanueva de la Cañada, 28691 Madrid, Spain; aliciabarbero.vet@gmail.com

⁸ Department of Veterinary Medicine, University of Perugia, 06126 Perugia, Italy

⁹ Department of Veterinary Medicine, University of Sassari, 07100 Sassari, Italy; francescacorda91@tiscali.it (F.C.); andreacorda@uniss.it (A.C.)

* Correspondence: vetcornerzaragoza@gmail.com (M.D.A.); domenico.caivano@unipg.it (D.C.); Tel.: +34-687-24-76-78 (M.D.A.); +39-075-5857613 (D.C.)



Citation: Gómez Ochoa, P.; Alférez, M.D.; de Blas, I.; Fernandes, T.; Sánchez Salguero, X.; Balañá, B.; Meléndez Lazo, A.; Barbero Fernández, A.; Caivano, D.; Corda, F.; et al. Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation of Chemodectomas in Five Dogs. *Animals* **2021**, *11*, 2790. <https://doi.org/10.3390/ani11102790>

Academic Editor: Cinzia Benazzi

Received: 1 July 2021

Accepted: 20 September 2021

Published: 24 September 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Simple Summary: Chemodectomas are rare tumors in dogs. Although brachycephalic breeds seem to be overrepresented, likely due to chronic hypoxia, also non-brachycephalic dogs may be affected. The growth of chemodectomas sometimes leads to compression and/or pericardial effusion; metastases appear infrequently. Therapeutical management includes chemotherapy, surgery, stent placement and radiotherapy. This study describes a novel approach using a minimally invasive technique based on percutaneous ultrasound-guided radiofrequency ablation in five dogs affected by symptomatic chemodectoma. Under general anesthesia and by sonographic guidance, a Leveen electrode, with an umbrella-like configuration, was placed inside the tumor. An alternating current through the electrode produced a spherical volume which increased the temperature, producing tissular necrosis. No complications either during the procedure or in the following days were reported in the five dogs. A rapid clinical improvement was achieved in all the dogs. Changes in the apparent size and echotexture of the mass were also observed. Thermal ablative therapy represents a potential new approach in the clinical management of aortic body tumors.

Abstract: Chemodectomas are low prevalence tumors with complex clinical management. Many present as an incidental finding however, in other dogs, they produce pericardial effusion and/or compression, leading to the appearance of severe clinical signs. There are currently several approaches: surgery, radiotherapy, stent placement and chemotherapy. This is the first description of percutaneous echo-guided radiofrequency ablation of aortic body tumors. This minimally invasive treatment is based on high frequency alternating electrical currents from an electrode that produces ionic agitation and generates frictional heat, causing coagulation necrosis. Five dogs with an echocardiographic and cytological diagnosis of chemodectoma underwent percutaneous echo-guided radiofrequency ablation. At the time of presentation, all the dogs showed clinical signs, such as ascites and/or collapse. There were no complications either during the procedure or in the following 24 hours. Rapid clinical improvement associated with a reduction in size and change in sonographic appearance of the mass were achieved with no complications. Six months follow-up was carried out in all dogs. A second percutaneous echo-guided RFA was performed eight months after the first procedure in one dog. Based on our experience, radiofrequency ablation seems to be a feasible and safe technique, making it a potential alternative therapeutic approach in the clinical management of aortic body tumors leading to severe clinical compromise.

Keywords: thermal ablation; radiofrequency ablation; tumor; chemodectoma; aortic body tumor; ultrasound; ultrasound guidance; canine

1. Introduction

Cardiac tumors in dogs present an incidence ranging from 0.19 to 3% [1–3]. Chemodectomas (CDs) are aortic body tumors arising from chemoreceptors in the aortic wall. The term chemodectoma (CD) derives from the Greek words, chemia (infusion), dechsthai (to), and oma (tumor) [4]. Aortic bodies are related to changes in the chemical constitution of arterial blood, which is stimulated by decreased arterial oxygen tension, increased acidity, increased carbon dioxide tension, increased blood temperature, and certain drugs [5,6]. CDs are overrepresented in brachycephalic breeds, and a higher risk of neoplasia has been reported in English and French bulldogs, Boxers and Boston terriers [7,8]. Chronic hypoxia seems to trigger the development of this neoplasia, as reported in human beings [9–11]. Most CDs are detected as an incidental finding during thoracic X-rays or echocardiographic examinations. Clinical signs depend on whether the mass causes compression of adjacent structures, pericardial effusion or seldom chamber invasion. Reported clinical manifestations include ascites, pleural and pericardial effusion, cranial vena cava syndrome, exercise intolerance, cough, lethargy, anorexia, inappetence, collapse, and arrhythmias [5,6,12–16].

The therapeutic approach to CDs has changed over time. Surgical excision of the tumor is difficult given its location, vascularization and the clinical and the anatomical requirements of this procedure [17,18]. In dogs with non-resectable masses and clinical signs associated with pericardial effusion and cardiac tamponade, pericardiectomy can be considered as a palliative procedure with a significantly longer survival time (mean \pm SD, 661 \pm 170 days) than in dogs treated medically (129 \pm 51 days) [16].

The complex approach to this tumor is reflected in the multitude of treatment modalities described in the literature, as well as the potential use of several different modalities in the same dog as part of a multimodal approach. Toceranib phosphate [19,20], stereotactic radiotherapy [8,15,21,22] and stent placement to alleviate local vascular compression have been described [23,24].

Radiofrequency ablation (RFA) is a minimally invasive treatment based on alternating high-frequency electrical currents from an electrode that produces ionic agitation and generates frictional heat, thus causing coagulation necrosis [25–27]. In human medicine, the efficacy of RFA has been reported in several primary tumors and metastases, with improvements in the mass effect as well as controlling the biological activity of the tumor [28–41]. In veterinary medicine, percutaneous ultrasound-guided RFA has been used successfully to treat functioning parathyroid and thyroid masses in dogs [42–45] and cats [46], respectively.

To the best of our knowledge, no reports have described the use of RFA in the treatment of CDs in either veterinary or human medicine. This study therefore describes the percutaneous echo-guided RFA of aortic body tumors and the clinical follow-up in five dogs.

2. Materials and Methods

Five dogs with an echocardiographic and cytological diagnosis of CD underwent percutaneous echo-guided RFA and six-month follow-up. Procedures were carried out at a veterinary referral centre VetCorner (Zaragoza, Spain). All owners signed an informed consent form before submitting their dogs to the procedure described below. The owners declined other therapeutical options, firstly offered before RFA.

The breed, age, sex, reproductive status, and body weight (BW) of the dogs are reported in Table 1.

Table 1. Breed, sex, reproductive status, body weight and age of dogs.

Dog	Breed	Sex and Reproductive Status	BW (kg)	Age (years)
1	Shar pei	F, N	26	12
2	Boxer	M, E	32	10
3	French Bulldog	F, N	18	10
4	French Bulldog	M, N	14	9
5	Spanish Water dog	M, E	22	12

F, female; M, male; N, neutered; E, entire; BW, body weight.

At presentation (T0) each dog underwent a complete physical examination, urine and blood collection, abdominal ultrasonography, thoracic X-ray, echocardiography, and echo-guided fine-needle aspiration of the cardiac-base tumor with a 27 G needle. Both echocardiography and abdominal scans were performed with a MyLab Alpha or a MyLab X8 (Esaote, Genova, Italy) equipped with phased array probes ranging from 1 to 9 MHz and a microconvex probe of 8–11 MHz (Esaote, Genova, Italy). Echocardiographic examinations, with simultaneous ECG, were performed according to the recommendations for standard transthoracic echocardiography in dogs [47]. CD was diagnosed by a combination of echocardiographic and cytological findings.

The percutaneous echo-guided RFA procedure was performed under general anesthesia with the dog placed in right or left lateral recumbence, depending on the mass location. All dogs were premedicated with intravenous methadone 0.2 mg/kg and diazepam 0.25 mg/kg. Induction was carried out with intravenous propofol, and maintenance with inhalant sevoflurane. Capnography, pulse oximetry, indirect arterial blood pressure, body temperature and ECG were monitored during the procedure.

Thermoablation was performed with an RF 3000 Radiofrequency Generator (Boston Scientific, Marlborough-ma, MA, USA) with a LeVein Needle Electrode (Boston Scientific, Marlborough-ma, MA, USA), with an umbrella-like deployment configuration (Figure 1), whose diameter and length were based on the depth and size of the cardiac mass to be ablated [26,27].



Figure 1. LeVein Needle Electrode. (a) the 3.0 LeVein Needle Electrode; (b) the ten atraumatic umbrella-like tines of the 3.0 LeVein Needle Electrode.

Two ultrasound windows, left cranial parasternal and right parasternal short axis views, were mainly used and optimized in order to accurately measure the masses and facilitate the insertion of the electrode. The electrode was positioned in the mass under ultrasonographic guidance from the non-recumbent chest side in a fashion like a routine percutaneous biopsy [48] (Figure 2). The electrode was inserted in the point of contact or in the point of the shortest distance between the mass and the internal thoracic surface. Once inside, ten atraumatic umbrella-like tines were deployed creating a spherical ablation volume (Figure 2. Video S1). At this point the monopolar radiofrequency electrode was activated, resulting in a transfer of electrical current from the tines to the surrounding tissue, leading to coagulation necrosis of the neoplastic tissue [27,49,50].

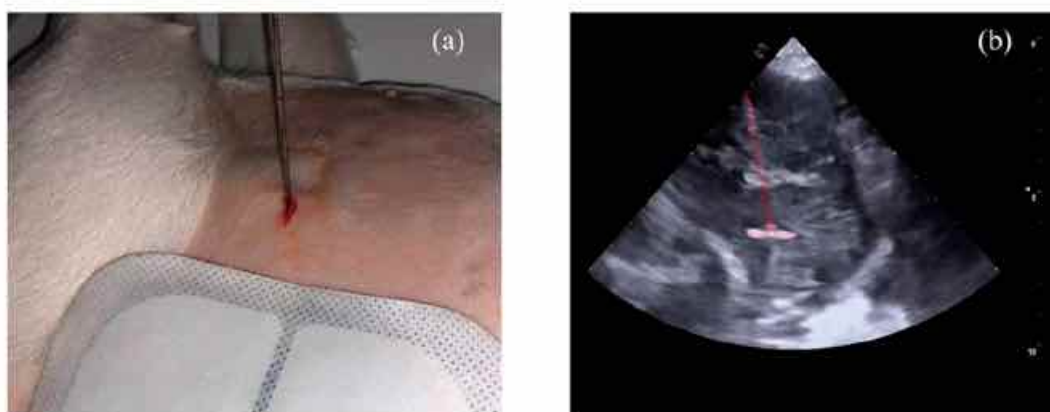


Figure 2. (a) LeVeen electrode positioned on the right hemithorax below the grounding pad. (b) Sonographic appearance of the electrode deployed within the mass, overimpressed in light red.

To disperse the energy produced, two adhesive electrosurgical grounding pads (3M, Saint Paul, MI, USA) were attached to the dorsal region of each hemithorax, providing a safe return path for electrosurgical currents [26].

The time and power of electromagnetic energy tissue exposure were set following the manufacturer's recommendations. An increasing power algorithm was used until the increase in tissue impedance, which was directly correlated to tissue necrosis, leading to the drop in the power delivered (roll-off point). At this point the thermal ablation was considered complete. The maximum necrosis volume, focused on the compression site, was created without damaging the surrounding tissues [50].

At the end of the procedure, the electrode was removed, and the dog was awakened. Cyanoacrylate tissue adhesive (3M VetBond, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Germany) was applied to close the point of entry of the electrode in the skin. Dogs were hospitalized and monitored with ECG and TFAST ultrasonography [51] before being discharged. Clinical and echocardiographic follow-up examinations were carried out one (T1), three (T2) and six months (T3) after the procedure. All the echocardiographic examinations before, during and after the procedure were performed by the same operator (P.G.O.) with several years' experience in ultrasonography, cardiology, and ultrasound-guided procedures. For each dog the echo settings were kept constant during all the examinations in order to better appreciate the changes in ultrasonographic appearance.

After each RFA procedure, the patients were discharged with anti-inflammatory (prednisone 0.5 mg/Kg, twice a day, orally for one week followed by 0.25 mg/kg, twice a day, orally for 5 days) and antibiotic medication (amoxicillin 12.5 mg/kg, twice a day, orally for one week). Moreover, in order to reduce fibrinolytic activation and minimize the perioperative bleeding risk, one week before and three weeks after the procedure all the dogs underwent treatment with an oral fibrinolysis inhibitor (tranexamic acid 10 mg/kg twice a day) [52–54].

3. Results

At T0 all the dogs had biochemical, hematological, clotting times (pro-thrombin and activated partial thrombin times) and urinary test results within the normal limits, except for a slight increase in liver enzymes in dogs with ascites (AST 90 U/L and ALT 80 U/L in dog 1; ALT 96 U/L and ALP 216 U/L in dog 3; ALT 106 U/L and ALP 125 U/L in dog 4; AST 85 U/L, ALT 118 U/L and ALP 120 U/L in dog 5; reference intervals AST 10–60 U/L, ALT 10–70 U/L, ALP 0–110 U/L). In all the dogs, the echocardiographic examination showed a rounded mass of homogeneous echotexture, which was slightly hyperechoic,

localized in the wall of the ascending aorta at the level of the heart base. Three of the masses compressed the pulmonary artery (dogs 1, 4 and 5), one compressed the caudal vena cava (dog 2), and another one the right atrium, invading the interatrial septum and penetrating the left atrium (dog 3). The three dogs with pulmonary artery compression presented ascites as the main clinical complaint. The two dogs with caudal vena cava and right atrial compression presented syncope as the main clinical sign (dogs 2 and 3). The apparent size of the masses, measured at the compression site, ranged between 4 and 8.5 cm in diameter (Table 2).

Table 2. Mass compression site, apparent size of the mass and main clinical sign at presentation.

Dog	Compression Site	Apparent CD Size at T0 (cm)	Main Clinical Signs at T0
1	Pulmonary artery	6.8	Ascites
2	Caudal vena cava	4.0	Syncope
3	Right atrium with left atrium invasion	8.5	Ascites and syncope
4	Pulmonary artery	7.6	Ascites
5	Pulmonary artery	5.8	Ascites

CD, chemodectoma; T0, before the procedure.

During echocardiographic examination, sporadic arrhythmic events were observed in two dogs, and included isolated premature complexes of ventricular (dog 3) and supraventricular origin (dog 2). Abdominal ultrasonography and thoracic X-rays showed no evidence of metastasis. In all cases, cytological results showed abundant naked nuclei with a neuroendocrine pattern. Intact cells had rounded edges and a light blue cytoplasm with round to oval nuclei with nucleoli. Anisocytosis and anisokaryosis were mild, and the ratio nucleus/cytoplasm was moderate. The cytological characteristics were compatible with CD (Figure 3).

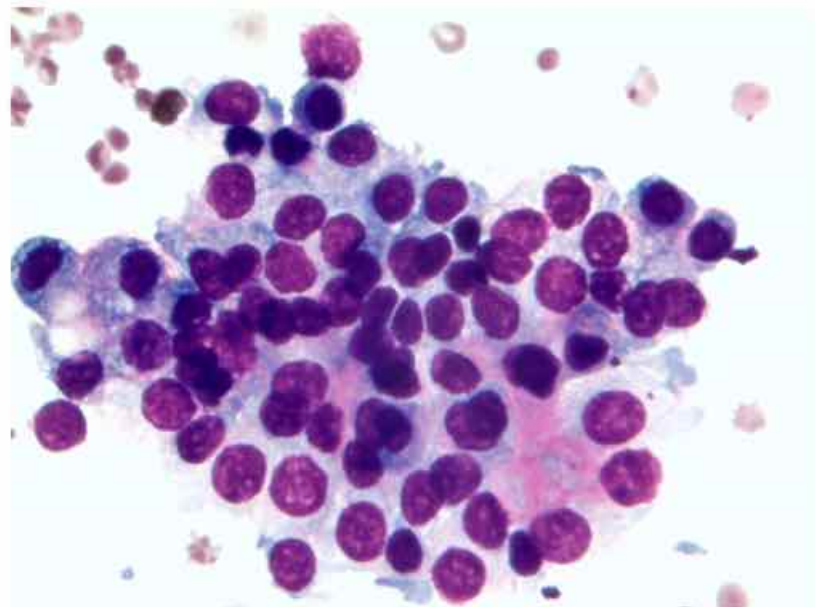


Figure 3. Cytological sample from dog 1.

Considering the apparent size of the masses, a needle with a maximum diameter of 3 cm was chosen for each procedure, in order not to damage the surrounding tissues [50].

The ablation time until the roll-off point ranged from 11 to 18 min (Table 3). After reaching the roll-off, the electrode was removed from the mass and the procedure was considered completed.

Table 3. Compression site, ablation time until impedance roll-off, apparent mass size and peak pulmonary velocity change before (T0) and after the procedure (T1, T2 and T3) in each dog.

Dog	Compression Site	Ablation Time (min)	Apparent CD Size (cm)				Pulmonary Artery Velocity (m/s)			
			T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
1	Pulmonary artery	18	6.8	1.2	0.8	0.8	3.2	1.2	1.1	1.2
2	Caudal vena cava	11	4.0	2.2	1.6	1.3	0.8	0.7	0.7	0.8
3	Right atrium with left atrium invasion	28	8.5	6.5	5.8	5.6	1.1	0.9	0.9	0.9
4	Pulmonary artery	22	7.6	2.4	2.3	2.4	2.8	0.8	0.9	1.0
5	Pulmonary artery	14	5.8	1.6	1.3	1.2	2.2	0.6	0.7	0.7

T0, before the procedure CD, chemodectoma; T0, at presentation; T1, one month after the procedure, T2, three months after the procedure, T3, six months after the procedure.

The procedure was fast, with an average time, under general anesthesia, of 35 min, with a mean discharge time of two hours. During the anesthesia, none of the dogs had significant electrocardiographic or hemodynamic abnormalities, and all recovered rapidly. In the two hours following the procedure, no complications such as pneumothorax, bleeding, pericardial effusion, or arrhythmias were detected. No complications were reported by owners during the following 24 h.

One week after the RFA, there was a marked improvement in clinical signs. Ascites disappeared in dog 1, and in dogs 3, 4, and 5 it decreased markedly. Syncopal episodes disappeared in the two dogs who presented them (dogs 2 and 3).

One month after the procedure (T1), echocardiographic examination highlighted a marked reduction in the apparent mass size in all the dogs (Table 3) together with a notable change in the ultrasonographic appearance. The masses became heterogeneous and with mixed echogenicity characterized by multiple hyperechoic and hypoechoic areas absent at T0. Pulmonary artery peak velocity decreased markedly in the three dogs (cases 1, 4 and 5) affected by pulmonary artery compression (Table 3).

Three months after the procedure (T2), the masses remained similar to T1 in echotexture and echogenicity, and showed a slightly decreased in the apparent size in all the dogs (Table 3). Pulmonary peak velocity was stable with no evidence of pulmonary artery compression (Table 3). The CDs apparent size reduction, sonographic changes and the pulmonary peak velocity were maintained six months after the procedure (T3) (Table 3) (Figure 4).

In dog 4, a second percutaneous echo-guided RFA was performed eight months after the first procedure due to a compression of the caudal vena cava and ascites. The RFA was successfully performed, and the dog was still stable six months after the second procedure.

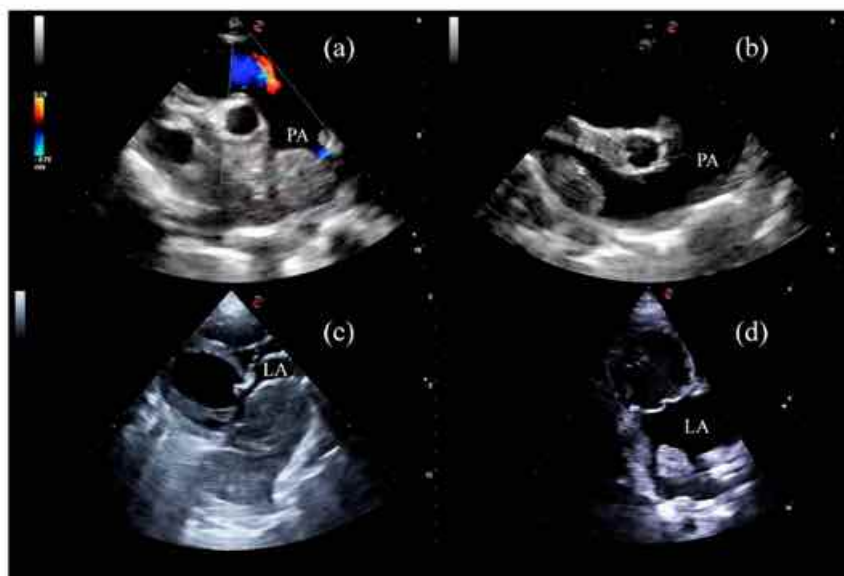


Figure 4. Sonographic appearance before and after the procedure. (a) patient 1 before RFA; (b) patient 1 after 180 days; (c) patient 3 before RFA showing left atrial invasion; (d) patient 3 after 180 days. LA (left atrium), PA (pulmonary artery).

4. Discussion

This report demonstrates that percutaneous echo-guided RFA is an effective and safe procedure for treating CDs in dogs with clinical signs associated with this neoplasia. The technique could offer a new and alternative approach in the clinical management of aortic body tumors.

Canine CDs usually present as a single mass growing in the wall of the ascending aorta at the level of the heart base, they are non-functional and generally locally invasive tumors with low metastatic potential [55]. Many dogs present CD as an incidental finding however, in other patients, they produce pericardial effusion or compression of adjacent cardiac structures [55]. In humans heart base CDs are extremely rare tumors and surgical removal is considered the treatment of choice [56,57]. In dogs CDs are low prevalence tumors with a complex clinical management. Several approaches have been described to treat these tumors, ranging from surgery [17], radiotherapy [8,21,22], stent placement [23,24] and chemotherapy [19,20]. There are currently no guidelines indicating which treatment option is best suited for canine CDs however, pericardiectomy and/or surgical excision of masses that are not locally invasive, can be considered the first choice treatment [16,17,55]. According to some authors, surgical excision would be indicated for CDs with a diameter of less than 5 cm [17]. Based on these data and on our experience, we can speculate that the RFA of canine CDs could be a valid alternative approach to the surgical excision in all cases where CDs exceed 5 cm and are locally invasive or in all cases where owners prefer a minimally invasive approach compared to a classic surgery that requires a longer post-operative period.

To the best of our knowledge, this study represents the first description of percutaneous ultrasound-guided RFA of CDs in either veterinary or human medicine. In humans, this technique has been used to alleviate myocardial hypertrophy [58–60] and to treat neuroendocrine tumors, such as paragangliomas, in different locations [61–63]. Percutaneous ultrasound-guided RFA has been reported for treatment of parathyroid and thyroid masses in dogs [42–45] and cats [46], respectively.

Unlike other studies, we did not include asymptomatic dogs [21,22]. In this study, all the dogs presented severe clinical signs at presentation. Clinical improvement was evident in all dogs a few days after RFA. In all the dogs, changes in ultrasonographic aspect and a reduction in the apparent size were evident in all follow-up examinations, and most importantly, no growth in the ablated area was observed. It has been demonstrated that fibrosis and scar tissue gradually replace the necrotic area generated by the RFA procedure [64,65]. Therefore, we hypothesized that the sonographic changes were due to the formation of scar tissue and that this had helped to contain the growth of the still active tumoral tissue.

In all the dogs, RFA was proven to be a rapid and safe technique with no complications neither during nor after the procedure. In human medicine, approximately 0.9–5% of patients presented complications directly attributable to this technique, such as infections in the area of necrosis and bleeding [27,66]. To minimize these complications, an antibiotic and fibrinolysis inhibitor were prescribed preventatively. Moreover, prednisolone was prescribed to reduce the inflammatory process due to the procedure (this is the common protocol used in our clinic for these procedures).

No abnormalities or post-RFA damage to adjacent cardiac structures were observed. In human beings, a case of thrombus formation after the use of RFA catheter ablation in atrial fibrillation was described in a patient previously subjected to radiotherapy [10,67]. There are also four references in which the use of RFA to treat atrial fibrillation was linked with the development of myxomas [68–71]. In our cases, the spherical ablation area produced by the Leveen needle electrode was kept away from the structures unaffected by the tumor, such as the aortic wall, the pulmonary artery wall, and atrioventricular valves.

Placing the electrode into the mass by ultrasound guidance remains the main limitation of this procedure. The procedures described in this report were applied to masses larger than 4 cm, which were in direct contact with or close to the chest wall. Smaller masses or those located in difficult-to-access areas, such as between the right pulmonary artery and the right atrium, may not be treatable by percutaneous ultrasound-guided RFA. Thoracoscopy or thoracotomy could be considered instead of a percutaneous approach, to address small masses in asymptomatic patients or in those with a difficult sonographic window.

It is necessary to emphasize that in our clinic we have performed RFA in 200 cases with various type of tumors from 2015; this could pose a limitation for some clinics with insufficient trained and experienced staff.

The present report has several limitations, firstly the small number of dogs included in the study does not allow us to generalize our results to the entire populations of dogs suffering from clinically relevant cardiac CDs. Secondly, the lack of computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) examinations, which would probably have been more accurate than ultrasonography in measuring and monitoring the change of shape, size, and texture of the mass after the treatment. However, the owners of the dogs included in the present study refused, mainly for economic reasons, to submit their dogs to serial anesthesia and CT examinations. Thirdly, the lack of Holter monitoring and cardiac troponin measurement to increase the accuracy of ruling out possible arrhythmias and myocardial damage related to the procedure. Finally, another limitation was the lack of long-term follow-up. Since the objective of this study was to assess the safety of the technique and the clinical evolution during 6 months follow-up examinations, a survival study was not set up. This will be carried out in the future by increasing the follow-up time and including more cases.

5. Conclusions

Thermal ablative therapy could represent a new and alternative approach in the clinical management of aortic body tumors. Radiofrequency ablation is a feasible, effective, and safe technique. Rapid clinical improvement associated with changes in size and in sonographic appearance of the tumor were achieved with no post-procedural complications.

Although further studies are needed to ascertain the role of RFA alone or as an adjuvant technique, it seems promising and we believe it should be considered in the multimodal management of CDs.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ani1102790/s1>, Video S1: Video S1 shows a LeVein electrode being positioned within the mass and the ultrasound appearance of the ablated tissue at the end of the procedure.

Author Contributions: Conceptualization, P.G.O., M.D.A. and A.C.; methodology, P.G.O., M.D.A. and A.C.; software, P.G.O., M.D.A. and A.C.; validation, P.G.O., M.D.A., A.C. and DC; formal analysis, P.G.O., M.D.A., I.d.B. and A.C.; investigation, P.G.O., M.D.A. and A.C.; resources, P.G.O., M.D.A., X.S.S., A.M.L., B.B., A.B.F., T.F., A.C.; data curation, P.G.O., M.D.A., I.d.B., D.C., F.C. and A.C.; writing—original draft preparation, P.G.O., M.D.A., D.C. and A.C.; writing—review and editing, P.G.O., M.D.A., I.d.B., T.F., X.S.S., B.B., A.M.L., A.B.F., D.C., F.C. and A.C.; supervision, P.G.O., M.D.A., D.C., A.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Ethical review and approval were waived for this study because all procedures were performed during clinical activity and were conducted in accordance with Spanish animal welfare legislation and the EU Directive 2010/63/EU for animal experiments.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data are available on request to the authors.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Walter, J.H.; Rudolph, R. Systemic, metastatic, eu- and heterotope tumours of the heart in necropsied dogs. *J. Vet. Med. Ser. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* **1996**, *43*, 31–45. [[CrossRef](#)]
- Girard, C.; Hélie, P.; Odin, M. Intrapericardial neoplasia in dogs. *J. Vet. Diagnostic Investig.* **1999**, *11*, 73–78. [[CrossRef](#)]
- Ware, W.A.; Hopper, D.L. Cardiac tumors in dogs: 1982–1995. *J. Vet. Intern. Med.* **1999**, *13*, 95–103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Surakiatchanukul, S.; Goodsitt, E.; Storer, J. Chemodectoma of the aortic body. *Chest* **1971**, *60*, 464–467. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Yates, W.D.; Lester, S.J.; Mills, J.H. Chemoreceptor tumors diagnosed at the Western College of Veterinary Medicine 1967–1979. *Can. Vet. J.* **1980**, *21*, 124–129.
- Hayes, H.M.; Sass, B. Chemoreceptor Neoplasia: A Study of the Epidemiological Features of 357 Canine Cases. *J. Vet. Med. Ser. A* **1988**, *35*, 401–408. [[CrossRef](#)]
- Guglielmini, C.; Baron Toaldo, M.; Quinci, M.; Romito, G.; Luciani, A.; Cipone, M.; Drigo, M.; Diana, A. Sensitivity, specificity, and interobserver variability of survey thoracic radiography for the detection of heart base masses in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2016**, *248*, 1391–1398. [[CrossRef](#)]
- Magestro, L.M.; Gieger, T.L.; Nolan, M.W. Stereotactic body radiation therapy for heart-base tumors in six dogs. *J. Vet. Cardiol.* **2018**, *20*, 186–197. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Arias-Stella, J.; Bustos, F. Chronic hypoxia and chemodectomas in bovines at high altitudes. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **1976**, *100*, 636–639.
- Lam, S.Y.; Tipoe, G.L.; Liong, E.C.; Fung, M.L. Chronic hypoxia upregulates the expression and function of proinflammatory cytokines in the rat carotid body. *Histochem. Cell Biol.* **2008**, *130*, 549–559. [[CrossRef](#)]
- Saldana, M.J.; Salem, L.E.; Travezan, R. High altitude hypoxia and chemodectomas. *Hum. Pathol.* **1973**, *4*, 251–263. [[CrossRef](#)]
- Aupperle, H.; März, I.; Ellenberger, C.; Buschatz, S.; Reischauer, A.; Schoon, H.A. Primary and Secondary Heart Tumours in Dogs and Cats. *J. Comp. Pathol.* **2007**, *136*, 18–26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ehrhart, N.; Ehrhart, E.J.; Willis, J.; Sisson, D.; Constable, P.; Greenfield, C.; Manfra-Maretta, S.; Hintermeister, J. Analysis of factors affecting survival in dogs with aortic body tumors. *Vet. Surg.* **2002**, *31*, 44–48. [[CrossRef](#)]
- Noszczyk-Nowak, A.; Nowak, M.; Paslowska, U.; Atamariuk, W.; Nicpon, J. Cases with manifestation of chemodectoma diagnosed in dogs in Department of Internal Diseases with Horses, Dogs and Cats Clinic, Veterinary Medicine Faculty, University of Environmental and Life Sciences, Wrocław, Poland. *Acta Vet. Scand.* **2010**, *52*, 1–7. [[CrossRef](#)]
- Rancilio, N.J.; Higuchi, T.; Gagnon, J.; McNeil, E.A. Use of three-dimensional conformal radiation therapy for treatment of a heart base chemodectoma in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2012**, *241*, 472–476. [[CrossRef](#)]
- Vicari, E.D.; Brown, D.C.; Holt, D.E.; Brockman, D.J. Survival times of and prognostic indicators for dogs with heart base masses: 25 cases (1986–1999). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2001**, *219*, 485–487. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Domenech, O.; Romito, G. Surgical excision of a heart base chemodectoma in a dog. *Veterinaria* **2013**, *27*, 23–29.

18. Obradovich, J.E.; Withrow, S.J.; Powers, B.E.; Walshaw, R. Carotid Body Tumors in the Dog Eleven Cases (1978–1988). *J. Vet. Intern. Med.* **1992**, *6*, 96–101. [[CrossRef](#)]
19. Lew, F.H.; McQuown, B.; Borrego, J.; Cunningham, S.; Burgess, K.E. Retrospective evaluation of canine heart base tumours treated with toceranib phosphate (Palladia): 2011–2018. *Vet. Comp. Oncol.* **2019**, *17*, 465–471. [[CrossRef](#)]
20. Coto, G.M.; Musser, M.L.; Tropf, M.A.; Ward, J.L.; Seo, Y.J.; Mochel, J.P.; Johannes, C.M. A Multi-Institutional Retrospective Analysis of Toceranib Phosphate for Presumed or Confirmed Canine Aortic Body Chemodectomas. *Front. Vet. Sci.* **2021**, *8*, 15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Kruckman-Gatesy, C.R.; Ames, M.K.; Griffin, L.R.; Boss, M.K.; Rao, S.; Leary, D.; LaRue, S.M. A retrospective analysis of stereotactic body radiation therapy for canine heart base tumors: 26 cases. *J. Vet. Cardiol.* **2020**, *27*, 62–77. [[CrossRef](#)]
22. Maeda, A.; Murakami, M.; Iwasaki, R.; Goto, S.; Kitagawa, K.; Sakai, H.; Mori, T. Three-dimensional conformal radiation therapy for canine aortic body tumour: 6 cases (2014–2019). *J. Small Anim. Pract.* **2021**, *62*, 385–390. [[CrossRef](#)]
23. Bussadori, C.M.; Claretti, M.; Borgonovo, S.; Boz, E.; Papa, M.; Rossi, C.; Martelli, F.; Aimi, M.; Signorelli, S.; Marinelli, R. Branch pulmonary artery stent placement in a dog with heart base neoplasia. *J. Vet. Cardiol.* **2020**, *30*, 17–22. [[CrossRef](#)]
24. Taylor, S.; Rozanski, E.; Sato, A.F.; Rush, J.E. Vascular stent placement for palliation of mass-associated chylothorax in two dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2017**, *251*, 696–701. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Singh, S.; Melnik, R. Thermal ablation of biological tissues in disease treatment: A review of computational models and future directions. *Electromagn. Biol. Med.* **2020**, *39*, 49–88. [[CrossRef](#)]
26. Ellis, L.M.; Curley, S.A.; Tanabe, K.K. *Radiofrequency Ablation: Current Indications, Techniques and Outcomes*; Ellis, L.M., Curley, S.A., Tanabe, K.K., Eds.; Springer: New York, NY, USA, 2004; Volume 242, ISBN 978-0-387-21598-3.
27. Wood, B.J.; Abraham, J.; Hvizda, J.L.; Alexander, H.R.; Fojo, T. Radiofrequency ablation of adrenal tumors and adrenocortical carcinoma metastases. *Cancer* **2003**, *97*, 554–560. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Wu, M.H.; Chen, K.Y.; Chen, A.; Chen, C.N. Differences in the ultrasonographic appearance of thyroid nodules after radiofrequency ablation. *Clin. Endocrinol.* **2021**, *95*, 489–497. [[CrossRef](#)]
29. Shibamoto, K.; Mimura, H.; Fukuhara, Y.; Nishino, K.; Kawamoto, H.; Kato, K. Feasibility, safety, and efficacy of artificial carbon dioxide pneumothorax for computed tomography fluoroscopy-guided percutaneous radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *Jpn. J. Radiol.* **2021**, *5*, 1–8. [[CrossRef](#)]
30. Alyusuf, E.Y.; Ekhzaimy, A.A.; Rivera, J.A. Radiofrequency Ablation as a Primary Therapy for Benign Functioning Insulinoma. *AACE Clin. Case Rep.* **2021**, *7*, 153–157. [[CrossRef](#)]
31. Dai, Y.; Covarrubias, D.; Uppot, R.; Arellano, R.S. Image-Guided Percutaneous Radiofrequency Ablation of Central Renal Cell Carcinoma: Assessment of Clinical Efficacy and Safety in 31 Tumors. *J. Vasc. Interv. Radiol.* **2017**, *28*, 1643–1650. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Nunes, T.F.; Szejnfeld, D.; Xavier, A.C.W.; Kater, C.E.; Freire, F.; Ribeiro, C.A.; Goldman, S.M. Percutaneous ablation of functioning adrenal adenoma: A report on 11 cases and a review of the literature. *Abdom. Imaging* **2013**, *38*, 1130–1135. [[CrossRef](#)]
33. Nunes, T.F.; Szejnfeld, D.; Xavier, A.C.W.; Goldman, S.M. Percutaneous ablation of functioning adenoma in a patient with a single adrenal gland. *BMJ Case Rep.* **2013**, *2013*, 1–4. [[CrossRef](#)]
34. Shen, X.; Chen, T.; Yang, B.; Liu, N.; Qian, X.; Xia, B.; Feng, D.; Chen, S. Magnetic resonance imaging-guided microwave ablation for lung tumor: A case report. *Quant. Imaging Med. Surg.* **2021**, *11*, 2780–2784. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Rimbasi, M.; Rizzatti, G.; Larghi, A. EUS-guided ablation of pancreatic neoplasms. *Minerva Gastroenterol.* **2021**. [[CrossRef](#)]
36. Qu, C.; Li, X.-Q.; Li, C.; Xia, F.; Feng, K.; Ma, K. The Short-Term Efficacy of Novel No-Touch Combined Directional Perfusion Radiofrequency Ablation in the Treatment of Small Hepatocellular Carcinoma with Cirrhosis. *J. Investig. Surg. Off. J. Acad. Surg. Res.* **2021**, *4*, 1–8. [[CrossRef](#)]
37. Koo, J.S.; Chung, S.H. The Efficacy of Radiofrequency Ablation for Bone Tumors Unsuitable for Radical Excision. *Clin. Orthop. Surg.* **2021**, *13*, 278–285. [[CrossRef](#)]
38. Inoue, T.; Yoneda, M. Updated evidence on the clinical impact of endoscopic radiofrequency ablation in the treatment of malignant biliary obstruction. *Dig. Endosc. Off. J. Japan Gastroenterol. Endosc. Soc.* **2021**, *2021*, 1–14. [[CrossRef](#)]
39. Hasegawa, T.; Kuroda, H.; Sakakura, N.; Sato, Y.; Chatani, S.; Murata, S.; Yamaura, H.; Nakada, T.; Oya, Y.; Inaba, Y. Novel strategy to treat lung metastases: Hybrid therapy involving surgery and radiofrequency ablation. *Thorac. Cancer* **2021**, *12*, 2085–2092. [[CrossRef](#)]
40. Galletti, B.; Gazia, E.; Galletti, C.; Freni, F.; Galletti, C.; Bruno, R.; Sireci, E.; Galletti, F. Radiofrequency vs cold surgery to treat oral papillomatous lesions. *Iran. J. Otorhinolaryngol.* **2021**, *33*, 87–91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Bai, X.-M.; Cui, M.; Yang, W.; Wang, H.; Wang, S.; Zhang, Z.-Y.; Wu, W.; Chen, M.-H.; Yan, K.; Goldberg, S.N. The 10-year Survival Analysis of Radiofrequency Ablation for Solitary Hepatocellular Carcinoma 5 cm or Smaller: Primary versus Recurrent HCC. *Radiology* **2021**, *300*, 458–469. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Pollard, R.E.; Long, C.D.; Nelson, R.W.; Hornof, W.J.; Feldman, E.C. Percutaneous ultrasonographically guided radiofrequency heat ablation for treatment of primary hyperparathyroidism in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2001**, *218*, 1106–1110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Razor, L.; Pollard, R.; Feldman, E.C. Retrospective evaluation of three treatment methods for primary hyperparathyroidism in dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **2007**, *43*, 70–77. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

44. Bucy, D.; Pollard, R.; Nelson, R. Analysis of Factors Affecting Outcome of Ultrasound-Guided Radiofrequency Heat Ablation for Treatment of Primary Hyperparathyroidism in Dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound* **2017**, *58*, 83–89. [[CrossRef](#)]
45. Leal, R.O.; Pascual, L.F.; Hernandez, J. The use of percutaneous ultrasound-guided radiofrequency heat ablation for treatment of primary hyperparathyroidism in eight dogs: Outcome and complications. *Vet. Sci.* **2018**, *5*, 91. [[CrossRef](#)]
46. Mallery, K.F.; Pollard, R.E.; Nelson, R.W.; Hornof, W.J.; Feldman, E.C. Percutaneous ultrasound-guided radiofrequency heat ablation for treatment of hyperthyroidism in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2003**, *223*, 1602–1607. [[CrossRef](#)]
47. Thomas, W.P.; Gaber, C.E.; Jacobs, G.J.; Kaplan, P.M.; Lombard, C.W.; Moise, N.S.; Moses, B.L. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. Echocardiography Committee of the Specialty of Cardiology, American College of Veterinary Internal Medicine. *J. Vet. Intern. Med.* **1993**, *7*, 247–252. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Barr, F. Percutaneous biopsy of abdominal organs under ultrasound guidance. *J. Small Anim. Pract.* **1995**, *36*, 105–113. [[CrossRef](#)]
49. Goldberg, S.N.; Gazelle, G.S.; Compton, C.C.; Mueller, P.R.; Tanabe, K.K. Treatment of intrahepatic malignancy with radiofrequency ablation: Radiologic-pathologic correlation. *Cancer* **2000**, *88*, 2452–2463. [[CrossRef](#)]
50. Jiang, B.; Zhao, K.; Yan, K.; Wang, S.; Meng, Y.; Liu, B.; Wu, H.; Wang, H. Percutaneous radiofrequency ablation near large vessels in beagle livers: The impact of time and distance on the ablation zone. *Int. J. Hyperth. Off. J. Eur. Soc. Hyperthermic Oncol. N. Am. Hyperth. Gr.* **2021**, *38*, 1263–1270. [[CrossRef](#)]
51. Boysen, S.R.; Lisicandro, G.R. The use of ultrasound for dogs and cats in the emergency room AFAST and TFAST. *Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract.* **2013**, *43*, 773–797. [[CrossRef](#)]
52. Faraoni, D.; Willems, A.; Melot, C.; de Hert, S.; van der Linden, P. Efficacy of tranexamic acid in paediatric cardiac surgery: A systematic review and meta-analysis. *Eur. J. Cardio-Thorac. Surg.* **2012**, *42*, 781–786. [[CrossRef](#)]
53. Fletcher, D.J.; Blackstock, K.J.; Epstein, K.; Brainard, B.M. Evaluation of tranexamic acid and ϵ -aminocaproic acid concentrations required to inhibit fibrinolysis in plasma of dogs and humans. *Am. J. Vet. Res.* **2014**, *75*, 731–738. [[CrossRef](#)]
54. Marin, L.M.; Iazbik, M.C.; Zaldivar-Lopez, S.; Guillaumin, J.; McLoughlin, M.A.; Couto, C.G. Epsilon Aminocaproic Acid for the Prevention of Delayed Postoperative Bleeding in Retired Racing Greyhounds Undergoing Gonadectomy. *Vet. Surg.* **2012**, *41*, 594–603. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Treggiari, E.; Pedro, B.; Dukes-McEwan, J.; Gelzer, A.R.; Blackwood, L. A descriptive review of cardiac tumours in dogs and cats. *Vet. Comp. Oncol.* **2017**, *15*, 273–288. [[CrossRef](#)]
56. Hoffmeier, A.; Sindermann, J.R.; Scheld, H.H.; Martens, S. Cardiac Tumors-Diagnosis and Surgical Treatment. *Dtsch. Arztebl. Int.* **2014**, *111*, 205–211. [[CrossRef](#)]
57. Huo, J.L.; Choi, J.C.; DeLuna, A.; Lee, D.; Fleischmann, D.; Berry, G.J.; Deuse, T.; Haddad, F. Cardiac paraganglioma: Diagnostic and surgical challenges. *J. Card. Surg.* **2012**, *27*, 178–182. [[CrossRef](#)]
58. D'Avila, A.; Houghtaling, C.; Gutierrez, P.; Vragovic, O.; Ruskin, J.N.; Josephson, M.E.; Reddy, V.Y. Catheter ablation of ventricular epicardial tissue: A comparison of standard and cooled-tip radiofrequency energy. *Circulation* **2004**, *109*, 2363–2369. [[CrossRef](#)]
59. Lawrenz, T.; Borchert, B.; Leuner, C.; Bartelsmeier, M.; Reinhardt, J.; Strunk-Mueller, C.; Meyer Zu Vilsendorf, D.; Schloesser, M.; Beer, G.; Lieder, F.; et al. Endocardial radiofrequency ablation for hypertrophic obstructive cardiomyopathy: Acute results and 6 months' follow-up in 19 patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2011**, *57*, 572–576. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Shin, E.S.; Chon, M.K.; Jun, E.J.; Park, Y.H.; Lee, S.H.; Kim, J.S.; Shin, D.H.; Lee, S.Y.; Cho, M.S.; Lee, S.W.; et al. Septal Reduction Using Transvenous Intramyocardial Cerclage Radiofrequency Ablation: Preclinical Feasibility. *JACC Basic Transl. Sci.* **2020**, *5*, 988–998. [[CrossRef](#)]
61. Ierardi, A.M.; Biondetti, P.; Ferrante, G.; Carugo, S.; Carrafiello, G. Immediate Clinical Success after Percutaneous Ablation of Extra-adrenal Paraganglioma. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* **2018**, *41*, 1803–1806. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. McBride, J.F.; Atwell, T.D.; Charboneau, W.J.; Young, W.F.; Wass, T.C.; Callstrom, M.R. Minimally invasive treatment of metastatic pheochromocytoma and paraganglioma: Efficacy and safety of radiofrequency ablation and cryoablation therapy. *J. Vasc. Interv. Radiol.* **2011**, *22*, 1263–1270. [[CrossRef](#)]
63. Kohlenberg, J.; Welch, B.; Hamidi, O.; Callstrom, M.; Morris, J.; Sprung, J.; Bancos, I.; Young, W. Efficacy and safety of ablative therapy in the treatment of patients with metastatic pheochromocytoma and paraganglioma. *Cancers* **2019**, *11*, 195. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Vogt, F.M.; Antoch, G.; Veit, P.; Freudenberg, L.S.; Blechschmid, N.; Diersch, O.; Bockisch, A.; Barkhausen, J.; Kuehl, H. Morphologic and Functional Changes in Nontumorous Liver Tissue after Radiofrequency Ablation in an In Vivo Model: Comparison of ^{18}F -FDG PET/CT, MRI, ultrasound, and CT. *J. Nucl. Med.* **2007**, *48*, 1836–1844. [[CrossRef](#)]
65. Lesser, T.G.; Ritter, F.; Schlosser, H.; Boltze, C.; Hackenbroich, C. Effects of radiofrequency ablation on normal lung tissue in a swine model. *Acad. Radiol.* **2011**, *18*, 1318–1323. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Yamakado, K.; Takaki, H.; Yamada, T.; Yamanaka, T.; Uraki, J.; Kashima, M.; Nakatsuka, A.; Takeda, K. Incidence and cause of hypertension during adrenal radiofrequency ablation. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* **2012**, *35*, 1422–1427. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Feng, L.Y.; Song, X.D.; Liu, L.; Wang, X.B.; Liu, P.; Zhang, X.L.; Zhou, Y.J.; Que, D.D.; Yu, W.J.; Li, Y.Q.; et al. Intramural hematoma versus thrombus: Radiation-induced heart disease results in mass formation after radiofrequency ablation. *Clin. Med. J.* **2016**, *129*, 2762–2764. [[CrossRef](#)]
68. Ancona, R.; Pinto, S.C.; Caso, P.; Di Palma, V.; Pisacane, F.; Martiniello, A.R.; Quarto, C.; de Rosa, N.; Pisacane, C.; Calabrò, R. Right atrial mass following transcatheter radiofrequency ablation for recurrent atrial fibrillation: Thrombus, endocarditis or mixoma? *Monaldi Arch. Chest Dis.-Card. Ser.* **2009**, *72*, 40–42. [[CrossRef](#)]

69. Pires, L.A.; Wagshal, A.B.; Huang, S.K. Development of an aortic valve mass after radiofrequency catheter ablation. *Pacing Clin. Electrophysiol.* **1994**, *17*, 398–399. [[CrossRef](#)]
70. Rubio Alvarez, J.; Martinez de Alegria, A.; Sierra Quiroga, J.; Adrio Nazar, B.; Rubio Taboada, C.; Martinez Comendador, J.M. Rapid growth of left atrial myxoma after radiofrequency ablation. *Texas Heart Inst. J.* **2013**, *40*, 459–461.
71. Sirin, G.; Ozker, E.; Fotbolcu, H.; Ozden, K.; Demirsoy, E. Myxoma developing after open heart surgery: Is radiofrequency ablation responsible for the formation of the tumor? *Acta Chir. Belg.* **2012**, *112*, 154–156. [[CrossRef](#)]

4.4. Ablación por radiofrecuencia percutánea en un feocromocitoma adrenal con invasión de la vena cava caudal

Gómez Ochoa P, Barbero Fernández A, **Alfárez Reyes MD**, Zoco Herrero G, Sanmartín Arroita U, Melendez Lazo A. *Ablación por radiofrecuencia percutánea en un feocromocitoma adrenal con invasión de la vena cava caudal*. **Axon Vet - Novedades en Veterinaria**. 2022;1-5. URL: <https://axoncomunicacion.net/ablacion-por-radiofrecuencia-percutanea-en-un-feocromocitoma-adrenal-con-invasion-de-la-vena-cava-caudal/>

Este estudio de caso analizó la viabilidad, seguridad y eficacia de la RFA percutánea, guiada por ecografía, en el tratamiento de un feocromocitoma adrenal en un perro, con invasión de la vena cava caudal. El paciente, un perro de 12 años, fue diagnosticado mediante ecografía abdominal y confirmación citológica, presentando una masa adrenal izquierda altamente vascularizada que ocupaba gran parte del diámetro de la vena cava. Este cuadro estaba asociado a hipertensión arterial grave y episodios de hemorragias.

El procedimiento se realizó bajo anestesia general utilizando un electrodo LeVein, que se posicionó en la glándula adrenal y en el pedículo de la invasión. El protocolo de RFA se diseñó para ablacionar la masa adrenal mientras se preservaba el flujo sanguíneo en la vena cava, cuyo efecto refrigerante limitó el alcance térmico del procedimiento en las áreas adyacentes al vaso. La ablación se llevó a cabo de manera progresiva, alcanzando el punto de roll-off para garantizar una necrosis coagulativa adecuada en la glándula afectada.

Previamente al procedimiento, el paciente fue tratado durante 2 semanas con prazosina para estabilizar la hipertensión y minimizar los efectos clínicos de una liberación catecolaminérgica durante el procedimiento. La monitorización intraoperatoria incluyó parámetros hemodinámicos, y se emplearon técnicas de imagen para evaluar en tiempo real los cambios inducidos por la ablación. La evaluación postoperatoria inmediata no reveló complicaciones significativas, y el seguimiento ecográfico mostró una reducción significativa del tamaño tumoral y estabilidad en el trombo oncogénico.

En el seguimiento clínico a mediano plazo, el paciente presentó mejoría notable en los síntomas asociados, como el control de la presión arterial y la resolución de los episodios hemorrágicos. No se evidenció progresión del trombo en la vena cava ni recurrencia del tumor en el sitio tratado durante el período de observación.

Este caso demuestra que la RFA percutánea es una técnica mínimamente invasiva y efectiva para el manejo paliativo de feocromocitomas adrenales en perros con invasión vascular. Aunque será necesario un estudio futuro que incluya más casos.



Ablación por radiofrecuencia percutánea en un feocromocitoma adrenal con invasión de la vena cava caudal

7 JULIO, 2022

Autores

Gómez Ochoa P, Barbero Fernández A, Alférez Reyes MD, Zoco Herrero G, Sanmartín Arroita U, Meléndez Lazo A.

VetCorner

email: vetcornzaragoza@gmail.com

Av. Rodríguez Ayuso 44. 50012 Zaragoza

Introducción

La ablación por radiofrecuencia percutánea (ARF) es un tipo de tratamiento local antitumoral muy usado en medicina humana. El uso del calor para la coagulación de tejidos vivos se menciona por primera vez en papiros egipcios cerca del año 3000 AC. La aplicación de la radiofrecuencia para calentar el tejido la realizó por primera vez d'Arsonval en 1891 comprobando como una corriente alterna de alta frecuencia no causaba contracciones musculares o dolor pero sí elevaba la temperatura a su paso por los tejidos. El daño celular comienza por encima de los 42°C; el tejido debe ser expuesto a esa temperatura durante largos periodos de tiempo, (de 3 a 50 horas dependiendo del tejido). Conforme se aumenta la temperatura hay una bajada exponencial del tiempo que se necesita para una respuesta citodestructiva. Por ejemplo, temperaturas superiores a 51°C destruyen células con sólo 2 minutos de exposición y subiendo por encima de 60°C empiezan a desnaturalizarse proteínas intracelulares, las bicapas lipídicas se funden y la muerte celular es inevitable. Curiosamente, las células neoplásicas son más resistentes al frío que las normales, sin embargo, presentan mayor sensibilidad al daño térmico por calor. Para conseguir este daño térmico se introduce una aguja o electrodo en forma de aguja en la zona elegida y se conecta a un generador de radiofrecuencia. Este produce una corriente alterna de alta frecuencia y como los tejidos conducen relativamente mal la corriente ejercen resistencia al paso de la misma. Los iones y las moléculas de agua se mueven y agitan intentando adaptarse al sentido de la corriente eléctrica, generando fricción y calor. Esta agitación iónica y el aumento de temperatura es proporcional a la intensidad de la corriente. La electricidad sigue su camino hasta unos dispersores colocados en la superficie del paciente. Estos, al tener gran superficie, disipan la energía sin generarse un aumento de temperatura significativo (Fig 1).

En la bibliografía de medicina humana hay multitud de referencias de este procedimiento para gran variedad de tumores. Desde carcinomas hepatocelulares, masas pulmonares, adrenales, renales, intestinales, sarcomas, tumores productores de osteoide, etc. En medicina veterinaria éste es el primer artículo que describe su uso en un feocromocitoma adrenal.

Nuestro equipo ha empleado con éxito esta tecnología desde hace dos años en 116 casos de diversa índole. Entre las neoplasias tratadas se encuentran tumores adrenales corticales (Cushing adrenal) y medulares, masas hepáticas, insulinomas pancreáticos, masas perianales, masas de base cardíaca (quimiodectomas), metástasis hepáticas, metástasis en linfonodos periportaes e iliacos, sarcomas superficiales, melanomas y carcinomas prostáticos.

Los objetivos que se persiguen con esta técnica son diferentes en función de la localización y tamaño de la neoplasia. Los candidatos ideales son tumores menores de 3,5 cm que no estén cerca de grandes vasos. En éstos se puede conseguir una ablación completa con márgenes. Si el tumor excede estas dimensiones es complicado conseguir una ablación completa, considerándose una técnica paliativa para reducir el tamaño y hacerlo más abordable quirúrgicamente, disminuir el efecto compresivo que esté generando o conseguir un control de la actividad biológica del tumor. En el caso de que la neoplasia esté cerca de vasos sanguíneos éstos actuarán como disipadores del calor, haciendo que las células cercanas al vaso estén refrigeradas y no mueran.

La ARF no es una técnica excluyente y debe unirse a un abordaje oncológico médico y quirúrgico. En medicina humana esta técnica se realiza en muchas ocasiones junto a embolizaciones vasculares o con quimioterapia adyuvante. En nuestro caso, dado que se trata de una terapia nueva en veterinaria, decidimos emplear los siguiente criterios de inclusión:

- Todos los casos presentaban clínica asociada a la neoplasia: compresión o invasión de estructuras (grandes vasos, colon, estómago).
- En todos los casos se evaluó previamente la posibilidad de resección quirúrgica: siendo rechazada por el propietario o por el cirujano.
- En el caso descrito a continuación la masa presentaba un gran tamaño e invadía la vena cava caudal. Debido al papel refrigerador del flujo de la vena cava sobre el trombo oncogénico se acordó con los propietarios únicamente ablacionar la glándula adrenal e ir reevaluando el tamaño del trombo.

Caso Clínico

Se presenta Spike, un perro de 12 años cruce de Setter inglés entero de 22kg y con historia clínica de epixtasis y hematuria. Tanto el análisis hematológico como la bioquímica y las serologías realizadas eran normales. Se registró una presión arterial elevada (220 mmHg-100 mmHg) a la que se achacaron las hemorragias. A continuación se realizaron radiografías de tórax, en las que no se encontraron alteraciones, y una ecografía abdominal. En ésta se apreció la glándula adrenal izquierda incrementada de tamaño (3cm), redondeada, sin calcificaciones y muy vascularizada. El crecimiento adrenal invadía la vena cava caudal desde la vena frenicoabdominal, ocupando prácticamente la totalidad del diámetro de la cava. Para una mejor caracterización de la invasión vascular se utilizó ecografía 3D. En el momento de la exploración no se apreciaba líquido libre en abdomen.

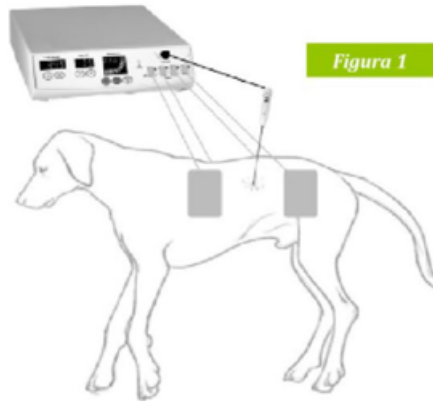
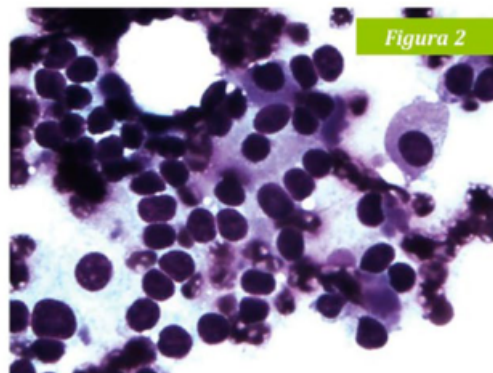


Figura 1

Para el diagnóstico se tomó una muestra citológica mediante punción ecoguiada primero de la masa adrenal y posteriormente del trombo oncogénico usando una aguja 27G. Además, se extrajo sangre para la determinación de metanefrinas.

En ambas citologías se observaron abundantes núcleos desnudos con patrón neuroendocrino. Las células intactas presentaban bordes redondeados y un citoplasma azul claro con núcleos redondos a ovales con nucleolo. La anisocitosis y anisocariosis eran leves y el ratio núcleo:citoplasma moderado. Estos hallazgos son compatibles, con una neoplasia de origen medular, feocromocitoma (Fig 2). Los niveles de catecolaminas fraccionadas en plasma estaban muy elevados: metanefrina libre en plasma 9,15 nmol/l(0,68-3,08) y normetanefrina libre en plasma 15,28 nmol/l(1,59-4,17).



Tras la confirmación diagnóstica, se medicó al paciente con prazosina durante las dos semanas previas a la ablación. Para la ARF se utilizó un electrodo de LeVeen de 4 cm englobando la masa y el pedículo de la vena frenicoabdominal. El paciente se encontraba bajo anestesia general y con monitorización completa, no apareciendo complicaciones. Una de las ventajas de la ARF es que se trata de una técnica ambulatoria en la mayoría de los casos. Por tanto tras finalizar el procedimiento y recuperarse de la anestesia Spike recibió el alta.

Se realizó un seguimiento mensual del paciente durante 3 meses en los que no recibió medicación alguna. A los 30 días de la ablación la masa presentaba un cambio notable en tamaño y ecogenicidad: había reducido su tamaño de 3 cm a 7 mm, además presentaba áreas hiperecogénicas y una retracción del 20% en el diámetro del trombo. Al tercer mes no pudo identificarse la masa, sin embargo, en el espacio que ocupaba la adrenal había un área hiperecogénica de 3mm. La invasión de la cava había quedado reducida a la entrada de la vena frenicoabdominal (Fig 3). En las tres revisiones el paciente presentó unos valores de presión arteriales normales y ausencia de signos clínicos. Un año después Spike sigue sin signos clínicos.

Discusión

En medicina humana la ablación por radiofrecuencia (ARF) es una técnica utilizada en neoplasias adrenales, consiguiendo mejoras tanto en el efecto masa, como en el control de la actividad biológica y en la supervivencia.

El feocromocitoma es un tumor de células cromafines de escasa prevalencia con un manejo clínico complejo. En el caso expuesto se ha utilizado ARF para paliar el efecto masa sobre la vena cava caudal y minimizar la actividad biológica del tumor. Los propietarios y el equipo quirúrgico consultado rechazaron un abordaje quirúrgico. Dado el



tamaño de la masa con la invasión en la vena cava caudal la ARF no puede considerarse un método curativo ya que el flujo de la vena hace que las células tumorales cercanas se refrigieren y no mueran durante el proceso. Apreciamos una desaparición de la masa adrenal y una gran reducción del trombo oncogénico, que puede deberse a una muerte celular secundaria a la ablación del pedículo al suprimir parte de la vascularización del trombo. La ARF produce una primera necrosis por coagulación del diámetro del electrodo empleado (si el algoritmo de subida de potencia se realiza correctamente) y una necrosis secundaria por isquemia en los tejidos circundantes dependientes de los pequeños vasos que se consiguen necrosar.

En medicina humana se describen picos de hipertensión sistémica por liberación de catecolaminas como una complicación frecuente durante el procedimiento. Para minimizar esta posibilidad se premedicó al paciente con prazosina durante 2 semanas y se dispuso durante la ARF de hidralazina y esmolol para el control de posibles elevaciones de la presión o de la frecuencia cardiaca. Para la punción con aguja fina no se realizó ningún tratamiento previo. En nuestra experiencia, usando agujas de 27G y realizando una punción cuidadosa no hemos observado variaciones de presión pre y post punción en ninguno de los pacientes puncionados.

Conclusión

En medicina humana la ablación por radiofrecuencia (ARF) es una técnica utilizada en neoplasias adrenales, consiguiendo mejoras tanto en el efecto masa, como en el control de la actividad biológica y en la supervivencia. En este caso la ARF resultó de gran utilidad para paliar, en un acto ambulatorio, los signos clínicos secundarios al feocromocitoma, obteniéndose una reducción significativa de la neoplasia y del trombo oncogénico.

Material multimedia



Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=EC19Ei2ZJN8>

Bibliografía

- *Image-guided ablation of adrenal lesions.*
- Yamakado K.
- *Semin Intervent Radiol.* 2014 Jun;31(2):149-56. doi: 10.1055/s-0034-1373797. Review.
- *Imaging-guided adrenal tumor ablation.*
- Uppot RN, Gervais DA.
- *AJR Am J Roentgenol.* 2013 Jun;200(6):1226-33. doi: 10.2214/AJR.12.10328. Review.
- *Percutaneous ablation of functioning adrenal adenoma: a report on 11 cases and a review of the literature.*
- Nunes TF, Szejnfeld D, Xavier AC, Kater CE, Freire F, Ribeiro CA, Goldman SM.
- *Abdom Imaging.* 2013 Oct;38(5):1130-5. doi: 10.1007/s00261-013-9995-6. Review.
- *Cushing syndrome treated by radiofrequency ablation of adrenal gland adenoma.*

- Nishi N, Tanaka J, Minagawa A.
- *Jpn J Radiol.* 2012 Apr;30(3):274-6. doi: 10.1007/s11604-011-0017-8. Epub 2012 Jan 25.
- Radiofrequency ablation: a novel approach for treatment of metastatic pheochromocytoma.
- Pacak K, Fojo T, Goldstein DS, Eisenhofer G, Walther MM, Linehan WM, Bachenheimer L, Abraham J, Wood BJ.
- *J Natl Cancer Inst.* 2001 Apr 18;93(8):648-9. No abstract available.
- Radiofrequency ablation of metastatic pheochromocytoma.
- Venkatesan AM, Locklin J, Lai EW, Adams KT, Fojo AT, Pacak K, Wood BJ.
- *J Vasc Interv Radiol.* 2009 Nov;20(11):1483-90. doi: 10.1016/j.jvir.2009.07.031.
- Unresectable Adrenal Metastases: Clinical Outcomes of Radiofrequency Ablation.
- Hasegawa T, Yamakado K, Nakatsuka A, Uraki J, Yamanaka T, Fujimori M, Miki M, Sasaki T, Sakuma H, Sugimura Y.
- *Radiology.* 2015 Nov;277(2):584-93. doi: 10.1148/radiol.2015142029. Epub 2015 May 21.
- Percutaneous Image-Guided Thermal Ablation for Multif Percutaneous radiofrequency ablation of lung metastases from colorectal carcinoma under C-arm cone beam CT guidance.
- Amouyal G, Pernot S, Déan C, Cholley B, Scotté F, Sapoval M, Pellerin O.
- *Diagn Interv Imaging.* 2017 May 29. pii: S2211-5684(17)30124-9. doi: 10.1016/j.diii.2017.05.002.
- Local Renal Cell Carcinoma: 10-Year Experience at a Single Center.
- Zhou W, Uppot RN, Feldman AS, Arellano RS.
- *AJR Am J Roentgenol.* 2017 Jul 5:1-7. doi: 10.2214/AJR.17.18290.
- Image-Guided Percutaneous Radiofrequency Ablation of Central Renal Cell Carcinoma: Assessment of Clinical Efficacy and Safety in 31 Tumors.
- Dai Y, Covarrubias D, Uppot R, Arellano RS.
- *J Vasc Interv Radiol.* 2017 Jul 1. pii: S1051-0443(17)30480-3. doi: 10.1016/j.jvir.2017.05.006.
- Long-term survival of hepatocellular carcinoma after percutaneous radiofrequency ablation guided by ultrasound.
- Zhang W, Luo E, Gan J, Song X, Bao Z, Zhang H, Chen M.
- *World J Surg Oncol.* 2017 Jul 5;15(1):122. doi: 10.1186/s12957-017-1189-1.
- Effects of radiofrequency ablation versus other ablating techniques on hepatocellular carcinomas: a systematic review and meta-analysis.
- Luo W, Zhang Y, He G, Yu M, Zheng M, Liu L, Zhou X.
- *World J Surg Oncol.* 2017 Jul 10;15(1):126. doi: 10.1186/s12957-017-1196-2.
- Osteoid osteoma – radiofrequency ablation treatment guided by computed tomography: a case series.
- Endo RR, Gama NF, Nakagawa SA, Tyng CJ, Chung WT, Pinto FFE.
- *Rev Bras Ortop.* 2017 Apr 28;52(3):337-343. doi: 10.1016/j.rboe.2017.04.005. eCollection 2017 May-Jun.
- Clinical outcomes of percutaneous radiofrequency ablation for small renal cancer.
- Ito K, Soga S, Seguchi K, Shinchi Y, Masunaga A, Tasaki S, Kuroda K, Sato A, Asakuma J, Horiguchi A, Shinmoto H, Kaji T, Asano T.
- *Oncol Lett.* 2017 Jul;14(1):918-924. doi: 10.3892/ol.2017.6262. Epub 2017 May 26.

5. Discusión general

La presente Tesis Doctoral ha abordado, mediante un enfoque sistemático, la validación de la RFA como modalidad terapéutica en medicina veterinaria oncológica. Los cuatro artículos que conforman este compendio han explorado su eficacia, seguridad y aplicabilidad clínica, cubriendo un espectro diverso de neoplasias y contextos clínicos. A continuación, se discuten los resultados obtenidos en función de los objetivos planteados, integrando las discusiones individuales de los artículos publicados.

5.1. Eficacia terapéutica de la RFA

El primer objetivo principal fue evaluar la eficacia terapéutica de la RFA en el tratamiento de neoplasias específicas, midiendo la reducción volumétrica tumoral, cambios en parámetros biológicos y respuesta clínica objetiva. Los resultados obtenidos en los estudios incluidos muestran que la RFA es eficaz para reducir el tamaño de los tumores y controlar los signos clínicos asociados (Gomez Ochoa et al., 2021; Alferez et al., 2024a, 2024b).

En los insulinomas tratados, se documentó una reducción significativa del tamaño junto con la normalización de la glucemia en el 100 % de los casos. Esto no solo resalta la capacidad ablativa del procedimiento, sino también su impacto funcional directo sobre la actividad endocrina tumoral. Comparativamente, en estudios similares en medicina humana, las tasas de éxito en tumores pancreáticos localizados son equivalentes, lo que valida la extrapolación de esta técnica al ámbito veterinario (Limmer et al., 2009; Procházka et al., 2012; Brauer, 2015; Lakhtakia et al., 2016; Rustagi y Chhoda, 2017; Choi et al., 2018; Furnica et al., 2020; Imperatore et al., 2020; Jonica y Wagh, 2020; Zhang et al., 2020; Alyusuf et al., 2021; El Sayed et al., 2021; Fahmawi et al., 2022; Marx et al., 2022; Armellini et al., 2023; Borrelli de Andreis et al., 2023; Biermann et al., 2024; Dhar et al., 2024).

Por otro lado, en los quimiodectomas y en el feocromocitoma, se logró una reducción significativa en el volumen tumoral, acompañada de la resolución de complicaciones clínicas graves, como la ascitis y la hipertensión. Estas mejoras clínicas reflejan el potencial de la RFA no solo para abordar el tumor primario, sino también para controlar sus efectos sistémicos. Estos fueron los primeros casos de este tipo de tumor tratados y en la actualidad en el centro se han tratado 58 quimiodectomas y 36 feocromocitomas, muchos de ellos con invasión de estructuras vasculares.

En el caso de los adenocarcinomas nasales la reducción volumétrica conseguida es muy similar a la radioterapia o la cirugía, pero con sin efectos secundarios (Du, 2013; Liang, Li y Liu, 2000; Ferrari et al., 2021).

La eficacia estuvo influenciada por factores técnicos, como el tamaño y la vascularización del tumor. Por ejemplo, en el feocromocitoma con invasión vascular, el efecto sumidero térmico limitó la extensión de la necrosis, aunque el uso de parámetros adaptativos mitigó en parte este desafío. Este fenómeno, bien documentado en la literatura (Pillai et al., 2015; Zorbas y Samaras, 2015; Lu et al., 2002), destaca la necesidad de optimizar los protocolos según la localización y características tumorales.

5.2. Perfil de seguridad

El segundo objetivo principal se centró en establecer el perfil de seguridad del procedimiento. Los resultados revelaron una baja incidencia de complicaciones graves, lo que posiciona a la RFA como una opción terapéutica segura. Las complicaciones observadas, como la carbonización perielectrodo o el aumento temporal de la impedancia tisular, se resolvieron mediante ajustes intraoperatorios en los parámetros de ablación, y tiene más relación con aspectos de eficacia que de seguridad clínica del paciente.

En los insulinomas no se observaron eventos adversos mayores, destacando la utilidad de la monitorización ecográfica en tiempo real para evitar daños a estructuras adyacentes. En los carcinomas nasales únicamente se apreció un leve sangrado al introducir el electrodo, que cesó al comenzar la RFA seguramente por el efecto vascular *lock*. En cuanto a los quimiodectomas la elección de rutas de inserción directas, alejadas de estructuras cardiacas y pulmonares seguramente contribuyó a la ausencia de complicaciones. En el feocromocitoma, el control preoperatorio de la hipertensión mediante bloqueadores α redujo significativamente los riesgos hemodinámicos intraoperatorios. Este enfoque multidisciplinar, también adoptado en medicina humana, mejora la seguridad del procedimiento en lesiones complejas (Wood et al., 2003; Ellis et al., 2004; Nemcek, 2006).

En todos los casos se utilizó para minimizar el riesgo de sangrado un inhibidor de la fibrinólisis, procedimiento extendido tanto en medicina como en veterinaria (Faraoni et al., 2012; Marin et al., 2012; Fletcher et al., 2014).

Cabe destacar, por tanto, que el perfil de seguridad varió según la localización tumoral, pero que se mantuvo dentro de un ámbito mejor que procedimientos más invasivos como la cirugía (Trifonidou et al., 1998; Sacks et al., 2003; Wu et al., 2006; Wouters et al., 2011; Pratschke et al., 2015; Hixon et al., 2019; Del Busto et al., 2020). Los puntos clave para minimizar la tasa de complicaciones son la adecuada selección del paciente, la planificación topográfica previa y el principio básico de cautela que debe guiar toda intervención clínica. Los efectos tardíos relacionados, sobre todo, con el patrón inflamatorio generado por la ablación, se paliaron con el uso de antiinflamatorios y analgésicos, pero no se necesitó en ninguno de los pacientes manejo hospitalario.

5.3. Aplicabilidad clínica

El tercer objetivo principal fue analizar la aplicabilidad clínica de la RFA, considerando su viabilidad técnica, reproducibilidad y relación coste-efectividad. Los estudios incluidos y realizados demuestran que la técnica es versátil y puede integrarse eficazmente en protocolos terapéuticos multimodales.

En términos técnicos, la guía ecográfica mostró ser esencial para garantizar la precisión del procedimiento y reducir complicaciones. En los insulinomas y quimiodectomas, el uso de electrodos expandibles permitió adaptar el volumen de ablación a lesiones de diferentes tamaños y geometrías. Sin embargo, las limitaciones inherentes a la técnica, como la profundidad de penetración térmica y la necesidad de márgenes oncológicos adecuados, subrayan la necesidad de avances tecnológicos, como sistemas de imagen híbrida y algoritmos de control térmico adaptativo (Ahmad, 2004; Ellis et al., 2004; Bourier et al., 2020; Bullone et al., 2020).

Desde el punto de vista económico, la RFA se presenta como una alternativa coste-efectiva frente a opciones más complejas, como la cirugía abierta o la radioterapia. Su menor invasividad, tiempos de recuperación reducidos y baja incidencia de complicaciones justifican su inclusión en el arsenal terapéutico veterinario.

5.4. Limitaciones y desafíos

Los hallazgos de esta tesis también destacan varias limitaciones de la RFA. En primer lugar, el tamaño y la localización de los tumores influyeron significativamente en los resultados. Las lesiones de gran tamaño o adyacentes a estructuras vasculares presentaron desafíos técnicos relacionados con la distribución térmica. Estos problemas, ampliamente documentados en la literatura, resaltan la necesidad de estrategias complementarias, como la oclusión vascular temporal o el uso de sistemas de ablación multimodal (Ahmad, 2004; Bourier et al., 2020; Bullone et al., 2020).

La monitorización en tiempo real, aunque efectiva en los casos estudiados, enfrenta limitaciones en la caracterización precisa de los márgenes de ablación. Los avances en técnicas de imagen, como los contrastes ecográficos, podrían ayudar a superar estas barreras y mejorar la predictibilidad del procedimiento (Jia et al., 2021).

Finalmente, la heterogeneidad en las propiedades conductivas de los tejidos neoplásicos plantea desafíos para la estandarización de protocolos. La implementación de sistemas de control adaptativo, basados en inteligencia artificial, podría optimizar la entrega energética en tiempo real y mejorar la eficacia de la técnica (Wood et al., 2007; Singh y Melnik, 2020; Sasaki et al., 2022).

5.5. Implicaciones clínicas y futuras líneas de investigación

Los resultados de esta tesis confirman que la RFA es una herramienta valiosa en la oncología veterinaria, especialmente en pacientes con contraindicaciones para procedimientos quirúrgicos. Su integración en protocolos terapéuticos multimodales, combinándola con inmunoterapias emergentes o quimioterapia, representa una prometedora dirección.

Las líneas de investigación futuras deben centrarse en la validación de la RFA en un mayor número de neoplasias y especies, así como en el desarrollo de tecnologías avanzadas para superar las limitaciones actuales. En la actualidad ya se han realizado estudios similares a los presentados en otros tumores en tiroides, próstata, glándulas anales, hígado, glándulas adrenales, tejido óseo y vaina nerviosa.

6. Conclusiones

Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral permiten extraer conclusiones relevantes en relación con los objetivos planteados. Tomando la estructura de los objetivos se abordará la eficacia, la seguridad y la aplicabilidad de la ablación por radiofrecuencia en el tratamiento de neoplasias específicas en medicina veterinaria.

PRIMERA. En relación con la eficacia terapéutica, la RFA ha demostrado ser una técnica efectiva en la reducción volumétrica de tumores, evidenciada mediante el análisis por imagen (ecografía y TC) y corroborada por la mejora de parámetros biológicos y clínicos. Este hallazgo valida la utilidad de la RFA como herramienta terapéutica en el manejo de tumores sólidos en medicina veterinaria, contribuyendo al control local de la enfermedad y la mejora de la calidad de vida del paciente.

SEGUNDA. El análisis sistemático de complicaciones intraoperatorias y postoperatorias mostró que la RFA presenta un perfil de seguridad aceptable, siempre que se utilicen protocolos estandarizados y se monitoricen adecuadamente los parámetros fisiológicos y bioquímicos del paciente durante el procedimiento. Aunque no es un procedimiento exento de riesgo, se identificaron muy pocos eventos adversos y estos fueron en su mayoría leves y transitorios, relacionados principalmente con la proximidad a estructuras críticas. La implementación de medidas como la planificación preoperatoria detallada y el uso de electrodos de diseño avanzado permitió minimizar riesgos, corroborando la viabilidad del procedimiento en contextos clínicos diversos.

TERCERA. En relación con su aplicabilidad clínica, la RFA se posiciona como una técnica altamente adaptable, con requisitos técnicos y logísticos manejables en entornos clínicos de mediana y alta complejidad. Su integración en protocolos multimodales, en combinación con otras terapias como quimioterapia, embolización o cirugía láparoasistida o abierta amplía significativamente sus indicaciones y potencial terapéutico. Además, los costos asociados al procedimiento fueron competitivos en comparación con otras modalidades terapéuticas, reforzando su relación coste-efectividad en casos seleccionados.

CUARTA. El desarrollo de protocolos de caracterización por imagen y metodología técnica reproducible fue esencial para el éxito de la RFA. Estos incluyeron criterios objetivos para la planificación terapéutica, como el análisis volumétrico y morfológico del tumor, y parámetros operativos ajustados según la localización y características tisulares de las neoplasias tratadas. Este enfoque sistemático no solo

aumentó la reproducibilidad del procedimiento, sino que también permitió evaluar de manera objetiva la respuesta terapéutica post-ablación.

QUINTA. La RFA muestra un gran potencial para su implementación más amplia en medicina veterinaria, particularmente en neoplasias que no son susceptibles de abordajes quirúrgicos convencionales. No obstante, se requiere de investigaciones adicionales para validar la técnica en una mayor diversidad de tipos tumorales y contextos clínicos, evaluar de manera más extensa su integración con terapias adyuvantes y refinar los protocolos operativos para optimizar los resultados y minimizar complicaciones.

Por tanto, podemos concluir de forma general que la RFA es una técnica prometedora, eficaz y segura, y con alta aplicabilidad clínica en la oncología veterinaria.

7. Bibliografía

- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. A., Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., Hahn, S. M., Hamblin, M. R., Juzeniene, A., Kessel, D., Korbelik, M., Moan, J., Mroz, P., Nowis, D., Piette, J., Wilson, B. C. & Golab, J. 2011. Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA Cancer J Clin*, 61, 250-81.
- Ahmad, S. A. 2004. Limitations of radiofrequency ablation in treating liver metastases: a lesson in geometry. *Ann Surg Oncol*, 11, 358-9.
- Ahmed, M., Brace, C. L., Lee, F. T., Jr. & Goldberg, S. N. 2011. Principles of and advances in percutaneous ablation. *Radiology*, 258, 351-69.
- Ahmed, M., Solbiati, L., Brace, C. L., Breen, D. J., Callstrom, M. R., Charboneau, J. W., Chen, M. H., Choi, B. I., De Baere, T., Dodd, G. D., 3rd, Dupuy, D. E., Gervais, D. A., Gianfelice, D., Gillams, A. R., Lee, F. T., Jr., Leen, E., Lencioni, R., Littrup, P. J., Livraghi, T., Lu, D. S., McGahan, J. P., Meloni, M. F., Nikolic, B., Pereira, P. L., Liang, P., Rhim, H., Rose, S. C., Salem, R., Sofocleous, C. T., Solomon, S. B., Soulen, M. C., Tanaka, M., Vogl, T. J., Wood, B. J., Goldberg, S. N., International Working Group on Image-Guided Tumor, A., Interventional Oncology Sans Frontieres Expert, P., Technology Assessment Committee of the Society of Interventional, R., Standard of Practice Committee of The, C. & Interventional Radiological Society Of, E. 2014. Image-guided tumor ablation: standardization of terminology and reporting criteria--a 10-year update. *Radiology*, 273, 241-60.
- Alferez, M. D., Corda, A., De Blas, I., Gago, L., Fernandes, T., Rodriguez-Piza, I., Balana, B., Corda, F. & Gomez Ochoa, P. 2024a. Percutaneous Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation as a Therapeutic Approach for the Management of Insulinomas and Associated Metastases in Dogs. *Animals*, 14.
- Alferez, M. D., Corda, A., De Blas, I., Gago, L., Fernandes, T., Rodriguez-Piza, I., Balana, B., Pentcheva, P., Caruncho, J., Barbero-Fernandez, A., Llinas, J., Rivas, D., Escudero, A. & Gomez-Ochoa, P. 2024b. Computed Tomography-Guided Radiofrequency Ablation of Nasal Carcinomas in Dogs. *Animals*, 14.
- Alonso-Gonzalez, N. & Hidalgo, A. 2014. Nuclear Receptors and Clearance of Apoptotic Cells: Stimulating the Macrophage's Appetite. *Front Immunol*, 5, 211.
- Alvarez, D., Vollmann, E. H. & Von Andrian, U. H. 2008. Mechanisms and consequences of dendritic cell migration. *Immunity*, 29, 325-42.
- Alyusuf, E. Y., Ekhzaimy, A. A. & Rivera, J. A. 2021. Radiofrequency Ablation as a Primary Therapy for Benign Functioning Insulinoma. *AACE Clin Case Rep*, 7, 153-7.

- Arena, C. B., Sano, M. B., Rossmeisl, J. H., Jr., Caldwell, J. L., Garcia, P. A., Rylander, M. N. & Davalos, R. V. 2011. High-frequency irreversible electroporation (H-FIRE) for non-thermal ablation without muscle contraction. *Biomed Eng Online*, 10, 102.
- Armellini, E., Facciorusso, A. & Crinò, S. F. 2023. Efficacy and Safety of Endoscopic Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation for Pancreatic Neuroendocrine Tumors: A Systematic Review and Metanalysis. *Medicina*, 59.
- Aryana, A., Irastorza, R. M., Berjano, E., Cohen, R. J., Kraus, J., Haghghi-Mood, A., Reddy, V. Y. & D'Avila, A. 2022. Radiofrequency ablation using a novel insulated-tip ablation catheter can create uniform lesions comparable in size to conventional irrigated ablation catheters while using a fraction of the energy and irrigation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 33, 1146-56.
- Audigier, C., Mansi, T., Delingette, H., Rapaka, S., Passerini, T., Mihalef, V., Jolly, M. P., Pop, R., Diana, M., Soler, L., Kamen, A., Comaniciu, D. & Ayache, N. 2017. Comprehensive preclinical evaluation of a multi-physics model of liver tumor radiofrequency ablation. *Int J Comput Assist Radiol Surg*, 12, 1543-59.
- Aydin, A. M., Gage, K., Dhillon, J., Cheriyan, S. K., Poch, M. A., Manley, B. J., Li, R., Sexton, W. J., Spiess, P. E., Gilbert, S. M. & Pow-Sang, J. M. 2020. Focal bipolar radiofrequency ablation for localized prostate cancer: Safety and feasibility. *Int J Urol*, 27, 882-9.
- Bagley, D. H., Terrill, R., Javadpour, N. & Beazley, R. M. 1976. Cryosurgery of the ureter in dogs. *Invest Urol*, 14, 241-5.
- Bai, X. M., Cui, M., Yang, W., Wang, H., Wang, S., Zhang, Z. Y., Wu, W., Chen, M. H., Yan, K. & Goldberg, S. N. 2021. The 10-year Survival Analysis of Radiofrequency Ablation for Solitary Hepatocellular Carcinoma 5 cm or Smaller: Primary versus Recurrent HCC. *Radiology*, 200153.
- Baust, J. G. & Gage, A. A. 2005. The molecular basis of cryosurgery. *BJU Int*, 95, 1187-91.
- Bertolotti, L., Bazzocchi, M. V., Iemma, E., Pagnini, F., Ziglioli, F., Maestroni, U., Patera, A., Natale, M. P., Martini, C. & De Filippo, M. 2023. Radiofrequency Ablation, Cryoablation, and Microwave Ablation for the Treatment of Small Renal Masses: Efficacy and Complications. *Diagnostics*, 13.
- Bianchi, M. E. 2007. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol*, 81, 1-5.
- Biermann, M. R., Sundar, P., Veeramachaneni, H., Chawla, S., Patel, V., Orr, J., Keilin, S. & Willingham, F. F. 2024. Radiofrequency ablation for the management of symptomatic pancreatic insulinomas. *VideoGIE*, 9, 45-50.
- Borggreffe, M., Hindricks, G., Haverkamp, W. & Breithardt, G. 1990. Catheter ablation using radiofrequency energy. *Clin Cardiol*, 13, 127-31.

- Borrelli De Andreis, F., Boškoski, I., Mascagni, P., Schepis, T., Bianchi, A., Schinzari, G., Annicchiarico, B. E., Quero, G., Tortora, G., Alfieri, S., Gasbarrini, A., Costamagna, G., Spada, C. & Attili, F. 2023. Safety and efficacy of endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation for pancreatic insulinoma: A single-center experience. *Pancreatology*, 23, 543-9.
- Bouley, D. M., Daniel, B., Pauly, K. B., Liu, E., Kinsey, A., Nau, W., Diederich, C. J. & Sommer, G. 2007. Correlation of contrast-enhanced MR images with the histopathology of minimally invasive thermal and cryoablation cancer treatments in normal dog prostates. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng*, 6440, 644006.
- Bourier, F., Ramirez, F. D., Martin, C. A., Vlachos, K., Frontera, A., Takigawa, M., Kitamura, T., Lam, A., Duchateau, J., Pambrun, T., Cheniti, G., Derval, N., Denis, A., Sacher, F., Hocini, M., Haissaguerre, M. & Jais, P. 2020. Impedance, power, and current in radiofrequency ablation: Insights from technical, *ex vivo*, and clinical studies. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 31, 2836-45.
- Brace, C. L. 2009. Microwave ablation technology: what every user should know. *Curr Probl Diagn Radiol*, 38, 61-7.
- Brauer, B. C. 2015. Intraductal Radiofrequency Ablation (RFA) for Pancreatic Cancer: Getting in Under the Wire? *Dig Dis Sci*, 60, 3160-1.
- Bullone, M., Garberoglio, R., Pregel, P., Cannizzo, F. T., Gagliardo, A., Martano, M., Bollo, E. & Scaglione, F. E. 2020. Characterization of the ablation zones produced by three commercially available systems from a single vendor for radiofrequency thermoablation in an *ex vivo* swine liver model. *Vet Med Sci*, 6, 1041-8.
- Butty, E., Forsyth, B. & Labato, M. A. 2022. Irreversible Electroporation Balloon Therapy for Palliative Treatment of Obstructive Urethral Transitional Cell Carcinoma in Dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 58, 231-9.
- Cedeno, D. L., Vallejo, A., Kelley, C. A., Tilley, D. M. & Kumar, N. 2017. Comparisons of Lesion Volumes and Shapes Produced by a Radiofrequency System with a Cooled, a Protruding, or a Monopolar Probe. *Pain Physician*, 20, E915-22.
- Cemazar, M., Tamzali, Y., Sersa, G., Tozon, N., Mir, L. M., Miklavcic, D., Lowe, R. & Teissie, J. 2008. Electrochemotherapy in veterinary oncology. *J Vet Intern Med*, 22, 826-31.
- Cha, C. H., Lee, F. T., Jr., Gurney, J. M., Markhardt, B. K., Warner, T. F., Kelcz, F. & Mahvi, D. M. 2000. CT versus sonography for monitoring radiofrequency ablation in a porcine liver. *AJR Am J Roentgenol*, 175, 705-11.
- Chang, S. K., Hlaing, W. W., Yang, L. & Chui, C. K. 2011. Current technology in navigation and robotics for liver tumours ablation. *Ann Acad Med Singap*, 40, 231-6.

- Chen, C. C., Miga, M. I. & Galloway, R. L., Jr. 2009. Optimizing electrode placement using finite-element models in radiofrequency ablation treatment planning. *IEEE Trans Biomed Eng*, 56, 237-45.
- Chen, G. Y. & Nunez, G. 2010. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol*, 10, 826-37.
- Chen, L. & Flies, D. B. 2013. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol*, 13, 227-42.
- Chen, M. S., Li, J. Q., Zheng, Y., Guo, R. P., Liang, H. H., Zhang, Y. Q., Lin, X. J. & Lau, W. Y. 2006. A prospective randomized trial comparing percutaneous local ablative therapy and partial hepatectomy for small hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*, 243, 321-8.
- Choi, J. H., Seo, D. W., Song, T. J., Park, D. H., Lee, S. S., Lee, S. K. & Kim, M. H. 2018. Endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation for management of benign solid pancreatic tumors. *Endoscopy*, 50, 1099-104.
- Christie, R. V. & Loomis, A. L. 1929. The Relation of Frequency to the Physiological Effects of Ultra-High Frequency Currents. *J Exp Med*, 49, 303-21.
- Chu, G. S. & Gupta, D. 2021. Local impedance to guide focal radiofrequency ablation: There is life in the old dog yet. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 32, 1549-52.
- Chu, K. F. & Dupuy, D. E. 2014. Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy. *Nat Rev Cancer*, 14, 199-208.
- Ciconelli, A. J., Cornicelli, J., Mascarenhas, S., Gouveia, P. R., Martins, A. C., Ferreira, A. L., Borges Junior, G. F., Ferraz, A. S. & Yamasaky, R. 1973. [Subscapular cryosurgery of the prostate. Experimental work in dogs: technico-surgical aspects]. *AMB Rev Assoc Med Bras*, 19, 97-100.
- Costanzo, A., Sandri, A., Regis, D., Trivellin, G., Pierantoni, S., Samaila, E. & Magnan, B. 2017. CT-guided radiofrequency ablation of osteoid osteoma using a multi-tined expandable electrode system. *Acta Biomed*, 88, 31-7.
- Crapse, J., Pappireddi, N., Gupta, M., Shvartsman, S. Y., Wieschaus, E. & Wuhr, M. 2021. Evaluating the Arrhenius equation for developmental processes. *Mol Syst Biol*, 17, e9895.
- Curley, S. A., Izzo, F., Ellis, L. M., Nicolas Vauthey, J. & Vallone, P. 2000. Radiofrequency ablation of hepatocellular cancer in 110 patients with cirrhosis. *Ann Surg*, 232, 381-91.
- Da Fonseca, R. D., Monteiro, M. S., Marques, M. P., Motta, B. C., Guimaraes, G. D. A., Do Santos, P. R., Jacobi, R. P. & Rosa, S. 2019. Roll-Off Displacement in *Ex vivo* Experiments of RF Ablation with Refrigerated Saline Solution and Refrigerated Deionized Water. *IEEE Trans Biomed Eng*, 66, 1390-401.

- Davalos, R. V., Bhonsle, S. & Neal, R. E., 2nd 2015. Implications and considerations of thermal effects when applying irreversible electroporation tissue ablation therapy. *Prostate*, 75, 1114-8.
- Davalos, R. V., Mir, I. L. & Rubinsky, B. 2005. Tissue ablation with irreversible electroporation. *Ann Biomed Eng*, 33, 223-31.
- De Baere, T., Denys, A., Wood, B. J., Lassau, N., Kardache, M., Vilgrain, V., Menu, Y. & Roche, A. 2001. Radiofrequency liver ablation: experimental comparative study of water-cooled versus expandable systems. *AJR Am J Roentgenol*, 176, 187-92.
- De Filippo, M., Ziglioli, F., Russo, U., Pagano, P., Brunese, L., Bertelli, E., Pagnini, F. & Maestroni, U. 2020. Radiofrequency ablation (RFA) of T1a renal cancer with externally cooled multitined expandable electrodes. *Radiol Med*, 125, 790-97.
- De Queiroz, G. F., Matera, J. M. & Zaidan Dagli, M. L. 2008. Clinical study of cryosurgery efficacy in the treatment of skin and subcutaneous tumors in dogs and cats. *Vet Surg*, 37, 438-43.
- Del Busto, I., German, A. J., Treggiari, E., Romanelli, G., O'Connell, E. M., Batchelor, D. J., Silvestrini, P. & Murtagh, K. 2020. Incidence of postoperative complications and outcome of 48 dogs undergoing surgical management of insulinoma. *J Vet Intern Med*, 34, 1135-43.
- Den Brok, M. H., Suttmuller, R. P., Van Der Voort, R., Bennink, E. J., Figdor, C. G., Ruers, T. J. & Adema, G. J. 2004. In situ tumor ablation creates an antigen source for the generation of antitumor immunity. *Cancer Res*, 64, 4024-9.
- Deodhar, A., Monette, S., Single, G. W., Jr., Hamilton, W. C., Jr., Thornton, R., Maybody, M., Coleman, J. A. & Solomon, S. B. 2011. Renal tissue ablation with irreversible electroporation: preliminary results in a porcine model. *Urology*, 77, 754-60.
- Dhar, J., Samanta, J., Nabi, Z., Aggarwal, M., Facciorusso, A., Conti Bellocchi, M. C. & Crinò, S. F. 2024. Endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation of pancreatic insulinoma: a state of the art review. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 18, 37-53.
- Dobnig, H. & Amrein, K. 2019. Value of monopolar and bipolar radiofrequency ablation for the treatment of benign thyroid nodules. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 33, 101283.
- Du, W. 2013. [Effect analysis of nasal inverted papilloma in nasal cavity and paranasal sinus by radiofrequency ablation under nasal endoscopy]. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*, 27, 42-3.
- Duenas, J. P., Buitrago-Gomez, N., Arias-Botero, J. H., Randolph, G., Russell, M., Abdelhamid Ahmed, A., Valcavi, R., Duque, C. S. & Tufano, R. P. 2024. The Influence

- of Impedance on the Efficacy of Radiofrequency Ablation for Benign Thyroid Nodules. *Laryngoscope*, 134, 5231-8.
- Edd, J. F., Horowitz, L., Davalos, R. V., Mir, L. M. & Rubinsky, B. 2006. *In vivo* results of a new focal tissue ablation technique: irreversible electroporation. *IEEE Trans Biomed Eng*, 53, 1409-15.
- El Sayed, G., Frim, L., Franklin, J., McCrudden, R., Gordon, C., Al-Shamma, S., Kiss, S., Hegyi, P., Erőss, B. & Hegyi, P. J. 2021. Endoscopic ultrasound-guided ethanol and radiofrequency ablation of pancreatic insulinomas: a systematic literature review. *Therap Adv Gastroenterol*, 14, 17562848211042171.
- Ellis, L. M., Curley, C. A. & Tanabe, K. K. 2004. *Radiofrequency Ablation for Cancer: Current Indications, Techniques and Outcomes*. Springer-Verlag, Berlin, 306 pp.
- Erinjeri, J. P. & Clark, T. W. 2010. Cryoablation: mechanism of action and devices. *J Vasc Interv Radiol*, 21, S187-91.
- Evans, M., Kang, S., Bajaber, A., Gordon, K. & Martin, C., 3rd 2025. Augmented Reality for Surgical Navigation: A Review of Advanced Needle Guidance Systems for Percutaneous Tumor Ablation. *Radiol Imaging Cancer*, 7, e230154.
- Fahmawi, Y., Mehta, A., Abdalhadi, H., Merritt, L. & Mizrahi, M. 2022. Efficacy and safety of endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation for management of pancreatic lesions: a systematic review and meta-analysis. *Transl Gastroenterol Hepatol*, 7, 30.
- Faiella, E., Casati, R., Pileri, M., Pacella, G., Altomare, C., Vergantino, E., Bruno, A., Beomonte Zobel, B. & Grasso, R. F. 2024. Augmented Reality Navigation System (SIRIO) for Neuroprotection in Vertebral Tumoral Ablation. *Curr Oncol*, 31, 5088-97.
- Fang, Z., Moser, M. a. J., Zhang, E., Zhang, W. & Zhang, B. 2019. Design of a Novel Electrode of Radiofrequency Ablation for Large Tumors: *In vitro* Validation and Evaluation. *J Biomech Eng*, 141.
- Faraoni, D., Willems, A., Melot, C., De Hert, S. & Van Der Linden, P. 2012. Efficacy of tranexamic acid in paediatric cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg*, 42, 781-6.
- Farber, D. L., Yudanin, N. A. & Restifo, N. P. 2014. Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis. *Nat Rev Immunol*, 14, 24-35.
- Fegrachi, S., Molenaar, I. Q., Klaessens, J. H., Besselink, M. G., Offerhaus, J. A. & Van Hillegersberg, R. 2014. Radiofrequency ablation of the pancreas: two-week follow-up in a porcine model. *Eur J Surg Oncol*, 40, 1000-7.
- Ferrari, M., Orlandi, E. & Bossi, P. 2021. Sinonasal cancers treatments: state of the art. *Curr Opin Oncol*, 33, 196-205.

- Fiedler, T. M., Ladd, M. E. & Bitz, A. K. 2018. SAR Simulations & Safety. *Neuroimage*, 168, 33-58.
- Fietta, A. M., Morosini, M., Passadore, I., Cascina, A., Draghi, P., Dore, R., Rossi, S., Pozzi, E. & Meloni, F. 2009. Systemic inflammatory response and downmodulation of peripheral CD25+Foxp3+ T-regulatory cells in patients undergoing radiofrequency thermal ablation for lung cancer. *Hum Immunol*, 70, 477-86.
- Filippiadis, D. & Kelekis, A. 2021. Percutaneous bipolar radiofrequency ablation for spine metastatic lesions. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 31, 1603-10.
- Fletcher, D. J., Blackstock, K. J., Epstein, K. & Brainard, B. M. 2014. Evaluation of tranexamic acid and epsilon-aminocaproic acid concentrations required to inhibit fibrinolysis in plasma of dogs and humans. *Am J Vet Res*, 75, 731-8.
- Fonseca, A. Z., Santin, S., Gomes, L. G., Waisberg, J. & Ribeiro, M. A., Jr. 2014. Complications of radiofrequency ablation of hepatic tumors: Frequency and risk factors. *World J Hepatol*, 6, 107-13.
- Formenti, S. C. & Demaria, S. 2009. Systemic effects of local radiotherapy. *Lancet Oncol*, 10, 718-26.
- Foster, K. R. & Schwan, H. P. 1989. Dielectric properties of tissues and biological materials: a critical review. *Crit Rev Biomed Eng*, 17, 25-104.
- Fritz, K., Tiplica, G. S. & Salavastru, C. 2023. [Radiofrequency: Monopolar, bipolar, multipolar and fractional]. *Dermatologie*, 74, 740-747.
- Fujiki, K. 2004. Pathological proof of cellular death in radiofrequency ablation therapy and correlation with flash echo imaging--an experiment study. *Kurume Med J*, 51, 43-52.
- Funk, R. H., Monsees, T. & Ozkucur, N. 2009. Electromagnetic effects - From cell biology to medicine. *Prog Histochem Cytochem*, 43, 177-264.
- Furnica, R. M., Deprez, P., Maiter, D., Vandeleene, B. & Borbath, I. 2020. Endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation: An effective and safe alternative for the treatment of benign insulinoma. *Ann Endocrinol*, 81, 567-71.
- Furusato, S., Kondo, E., Tamura, Y. & Tsuyama, Y. 2024. Successful laparotomic ethanol ablation for an adrenal tumour in a dog. *Vet Med Sci*, 10, e70020.
- Futyma, P., Zarebski, L. & Sauer, W. H. 2024. Impact of dispersive patch electrode positioning on safety and efficacy of radiofrequency catheter ablation. *Europace*, 26.
- Gadaleta, C., Catino, A., Ranieri, G., Armenise, F., Colucci, G., Lorusso, V., Cramarossa, A., Fiorentini, G. & Mattioli, V. 2004. Radiofrequency thermal ablation of 69 lung neoplasms. *J Chemother*, 16 Suppl 5, 86-9.

- Gage, A. A. & Baust, J. 1998. Mechanisms of tissue injury in cryosurgery. *Cryobiology*, 37, 171-86.
- Galluzzi, L., Buque, A., Kepp, O., Zitvogel, L. & Kroemer, G. 2017. Immunogenic cell death in cancer and infectious disease. *Nat Rev Immunol*, 17, 97-111.
- Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., Alnemri, E. S., Altucci, L., Amelio, I., Andrews, D. W., Annicchiarico-Petruzzelli, M., Antonov, A. V., Arama, E., Baehrecke, E. H., Barlev, N. A., Bazan, N. G., Bernassola, F., Bertrand, M. J. M., Bianchi, K., Blagosklonny, M. V., Blomgren, K., Borner, C., Boya, P., Brenner, C., Campanella, M., Candi, E., Carmona-Gutierrez, D., Cecconi, F., Chan, F. K., Chandel, N. S., Cheng, E. H., Chipuk, J. E., Cidlowski, J. A., Ciechanover, A., Cohen, G. M., Conrad, M., Cubillos-Ruiz, J. R., Czabotar, P. E., D'Angiolella, V., Dawson, T. M., Dawson, V. L., De Laurenzi, V., De Maria, R., Debatin, K. M., Deberardinis, R. J., Deshmukh, M., Di Daniele, N., Di Virgilio, F., Dixit, V. M., Dixon, S. J., Duckett, C. S., Dynlacht, B. D., El-Deiry, W. S., Elrod, J. W., Fimia, G. M., Fulda, S., Garcia-Saez, A. J., Garg, A. D., Garrido, C., Gavathiotis, E., Golstein, P., Gottlieb, E., Green, D. R., Greene, L. A., Gronemeyer, H., Gross, A., Hajnoczky, G., Hardwick, J. M., Harris, I. S., Hengartner, M. O., Hetz, C., Ichijo, H., Jaattela, M., Joseph, B., Jost, P. J., Juin, P. P., Kaiser, W. J., Karin, M., Kaufmann, T., Kepp, O., Kimchi, A., Kitsis, R. N., Klionsky, D. J., Knight, R. A., Kumar, S., Lee, S. W., Lemasters, J. J., Levine, B., Linkermann, A., Lipton, S. A., Lockshin, R. A., Lopez-Otin, C., Lowe, S. W., Luedde, T., Lugli, E., Macfarlane, M., Madeo, F., Malewicz, M., Malorni, W., Manic, G., et al. 2018. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*, 25, 486-541.
- Galluzzi, L., Vitale, I., Warren, S., Adjemian, S., Agostinis, P., Martinez, A. B., Chan, T. A., Coukos, G., Demaria, S., Deutsch, E., Draganov, D., Edelson, R. L., Formenti, S. C., Fucikova, J., Gabriele, L., Gaip, U. S., Gameiro, S. R., Garg, A. D., Golden, E., Han, J., Harrington, K. J., Hemminki, A., Hodge, J. W., Hossain, D. M. S., Illidge, T., Karin, M., Kaufman, H. L., Kepp, O., Kroemer, G., Lasarte, J. J., Loi, S., Lotze, M. T., Manic, G., Merghoub, T., Melcher, A. A., Mossman, K. L., Prosper, F., Rekdal, O., Rescigno, M., Riganti, C., Sistigu, A., Smyth, M. J., Spisek, R., Stagg, J., Strauss, B. E., Tang, D., Tatsuno, K., Van Gool, S. W., Vandenabeele, P., Yamazaki, T., Zamarin, D., Zitvogel, L., Cesano, A. & Marincola, F. M. 2020. Consensus guidelines for the definition, detection and interpretation of immunogenic cell death. *J Immunother Cancer*, 8.
- Gananadha, S. & Morris, D. L. 2004. Saline infusion markedly reduces impedance and improves efficacy of pulmonary radiofrequency ablation. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 27, 361-5.
- Garcia, P. A., Pancotto, T., Rossmeisl, J. H., Jr., Henao-Guerrero, N., Gustafson, N. R., Daniel, G. B., Robertson, J. L., Ellis, T. L. & Davalos, R. V. 2011. Non-thermal irreversible electroporation (N-TIRE) and adjuvant fractionated radiotherapeutic

multimodal therapy for intracranial malignant glioma in a canine patient. *Technol Cancer Res Treat*, 10, 73-83.

- Gehl, J., Sersa, G., Matthiessen, L. W., Muir, T., Soden, D., Occhini, A., Quaglino, P., Curatolo, P., Campana, L. G., Kunte, C., Clover, A. J. P., Bertino, G., Farricha, V., Odili, J., Dahlstrom, K., Benazzo, M. & Mir, L. M. 2018. Updated standard operating procedures for electrochemotherapy of cutaneous tumours and skin metastases. *Acta Oncol*, 57, 874-82.
- George, A. K., Miocinovic, R., Patel, A. R., Lomas, D. J., Correa, A. F., Chen, D. Y. T., Rastinehad, A. R., Schwartz, M. J., Uchio, E. M., Sidana, A., Helfand, B. T., Gahan, J. C., Yu, A., Vourganti, S., Barqawi, A. B., Brisbane, W. G., Wysock, J. S., Polascik, T. J., McClure, T. D. & Coleman, J. A. 2024. A Description and Safety Overview of Irreversible Electroporation for Prostate Tissue Ablation in Intermediate-Risk Prostate Cancer Patients: Preliminary Results from the PRESERVE Trial. *Cancers*, 16.
- Gillams, A. R. 2005. The use of radiofrequency in cancer. *Br J Cancer*, 92, 1825-9.
- Ginat, D. T., Saad, W., Davies, M., Walman, D. & Erturk, E. 2009. Bowel displacement for CT-guided tumor radiofrequency ablation: techniques and anatomic considerations. *J Endourol*, 23, 1259-64.
- Goldberg, S. N., Gazelle, G. S., Compton, C. C., Mueller, P. R. & Tanabe, K. K. 2000. Treatment of intrahepatic malignancy with radiofrequency ablation: radiologic-pathologic correlation. *Cancer*, 88, 2452-63.
- Goldberg, S. N., Gazelle, G. S., Dawson, S. L., Rittman, W. J., Mueller, P. R. & Rosenthal, D. I. 1995. Tissue ablation with radiofrequency using multiprobe arrays. *Acad Radiol*, 2, 670-4.
- Goldberg, S. N., Grassi, C. J., Cardella, J. F., Charboneau, J. W., Dodd, G. D., 3rd, Dupuy, D. E., Gervais, D., Gillams, A. R., Kane, R. A., Lee, F. T., Jr., Livraghi, T., McGahan, J., Phillips, D. A., Rhim, H., Silverman, S. G. & Society of Interventional Radiology Technology Assessment, C. 2005. Image-guided tumor ablation: standardization of terminology and reporting criteria. *J Vasc Interv Radiol*, 16, 765-78.
- Goldberg, S. N., Grassi, C. J., Cardella, J. F., Charboneau, J. W., Dodd, G. D., 3rd, Dupuy, D. E., Gervais, D. A., Gillams, A. R., Kane, R. A., Lee, F. T., Jr., Livraghi, T., McGahan, J., Phillips, D. A., Rhim, H., Silverman, S. G., Solbiati, L., Vogl, T. J., Wood, B. J., Vedantham, S., Sacks, D., Society of Interventional Radiology Technology Assessment, C. & The International Working Group on Image-Guided Tumor, A. 2009. Image-guided tumor ablation: standardization of terminology and reporting criteria. *J Vasc Interv Radiol*, 20, S377-90.
- Goldberg, S. N., Solbiati, L., Hahn, P. F., Cosman, E., Conrad, J. E., Fogle, R. & Gazelle, G. S. 1998. Large-volume tissue ablation with radio frequency by using a clustered,

- internally cooled electrode technique: laboratory and clinical experience in liver metastases. *Radiology*, 209, 371-9.
- Golden, E. B., Demaria, S., Schiff, P. B., Chachoua, A. & Formenti, S. C. 2013. An abscopal response to radiation and ipilimumab in a patient with metastatic non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Res*, 1, 365-72.
- Gomez Ochoa, P., Alferéz, M. D., De Blas, I., Fernandes, T., Sanchez Salguero, X., Balana, B., Melendez Lazo, A., Barbero Fernandez, A., Caivano, D., Corda, F. & Corda, A. 2021. Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation of Chemodectomas in Five Dogs. *Animals*, 11.
- Gonzalez-Suarez, A., Perez, J. J., Irastorza, R. M., D'Avila, A. & Berjano, E. 2022. Computer modeling of radiofrequency cardiac ablation: 30 years of bioengineering research. *Comput Methods Programs Biomed*, 214, 106546.
- Gordon, S. & Taylor, P. R. 2005. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol*, 5, 953-64.
- Gratiy, S. L., Haines, G., Denman, D., Hawrylycz, M. J., Koch, C., Einevoll, G. T. & Anastassiou, C. A. 2017. From Maxwell's equations to the theory of current-source density analysis. *Eur J Neurosci*, 45, 1013-23.
- Guo, Y., Wang, W., Li, W., Li, J., Zhu, M., Song, R., Zhu, W., Wang, L., Ji, Z. & Shi, X. 2024. *In vivo* electrical properties of the healthy liver and the hepatic tumor in a mouse model between 1 Hz and 1 MHz during a thermal treatment. *Int J Hyperthermia*, 41, 2396122.
- Guttin, T., Knox, V. W. T. & Diroff, J. S. 2015. Outcomes for dogs with primary hyperparathyroidism following treatment with percutaneous ultrasound-guided ethanol ablation of presumed functional parathyroid nodules: 27 cases (2008-2011). *J Am Vet Med Assoc*, 247, 771-7.
- Haar, G. T. & Coussios, C. 2007. High intensity focused ultrasound: physical principles and devices. *Int J Hyperthermia*, 23, 89-104.
- Habibi, M., Berger, R. D. & Calkins, H. 2021. Radiofrequency ablation: technological trends, challenges, and opportunities. *Europace*, 23, 511-9.
- Haemmerich, D., Chachati, L., Wright, A. S., Mahvi, D. M., Lee, F. T., Jr. & Webster, J. G. 2003. Hepatic radiofrequency ablation with internally cooled probes: effect of coolant temperature on lesion size. *IEEE Trans Biomed Eng*, 50, 493-500.
- Haen, S. P., Gouttefangeas, C., Schmidt, D., Boss, A., Clasen, S., Von Herbay, A., Kosan, B., Aebert, H., Pereira, P. L. & Rammensee, H. G. 2011. Elevated serum levels of heat shock protein 70 can be detected after radiofrequency ablation. *Cell Stress Chaperones*, 16, 495-504.

- Haines, D. E. & Watson, D. D. 1989. Tissue heating during radiofrequency catheter ablation: a thermodynamic model and observations in isolated perfused and superfused canine right ventricular free wall. *Pacing Clin Electrophysiol*, 12, 962-76.
- Hall, S. K., Ooi, E. H. & Payne, S. J. 2014. A mathematical framework for minimally invasive tumor ablation therapies. *Crit Rev Biomed Eng*, 42, 383-417.
- Han, M. G. & Kim, J. Y. 2022. Application of local anaesthesia and cryosurgery for eyelid masses in dogs. *Vet Med Sci*, 8, 476-82.
- Hanna, N. N. 2004. Radiofrequency ablation of primary and metastatic hepatic malignancies. *Clin Colorectal Cancer*, 4, 92-100.
- Hansler, J., Frieser, M., Tietz, V., Uhlke, D., Wissniowski, T. T., Bernatik, T., Hahn, E. G. & Strobel, D. 2007. Percutaneous ultrasound-guided radiofrequency ablation (RFA) using saline-perfused (wet) needle electrodes for the treatment of hepatocellular carcinoma--long term experience. *Ultraschall Med*, 28, 604-11.
- Hardie, D., Sangster, A. J. & Cronin, N. J. 2006. Coupled field analysis of heat flow in the near field of a microwave applicator for tumor ablation. *Electromagn Biol Med*, 25, 29-43.
- Harvey, H. J. 1980. Cryosurgery of oral tumors in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 10, 821-30.
- Hay, A. N., Aycock, K. N., Lorenzo, M. F., David, K., Coutermarsh-Ott, S., Salameh, Z., Campelo, S. N., Arroyo, J. P., Ciepluch, B., Daniel, G., Davalos, R. V. & Tuohy, J. 2024. Investigation of High Frequency Irreversible Electroporation for Canine Spontaneous Primary Lung Tumor Ablation. *Biomedicines*, 12.
- Hines-Peralta, A., Hollander, C. Y., Solazzo, S., Horkan, C., Liu, Z. J. & Goldberg, S. N. 2004. Hybrid radiofrequency and cryoablation device: preliminary results in an animal model. *J Vasc Interv Radiol*, 15, 1111-20.
- Hirakawa, M., Ikeda, K., Kobayashi, M., Kawamura, Y., Hosaka, T., Sezaki, H., Akuta, N., Suzuki, F., Suzuki, Y., Saitoh, S., Arase, Y. & Kumada, H. 2013. Randomized controlled trial of a new procedure of radiofrequency ablation using an expandable needle for hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res*, 43, 846-52.
- Hixon, L. P., Grimes, J. A., Wallace, M. L. & Schmiedt, C. W. 2019. Risk factors for gastrointestinal upset and evaluation of outcome following surgical resection of canine pancreatic beta-cell tumors. *Can Vet J*, 60, 1312-8.
- Hoffer, E. K., Drinane, M. C., Bhatnagar, V., Mehta, R., Munger, D. P. & Borsic, A. 2024. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma guided by real-time physics-based ablation simulation: a prospective study. *Int J Hyperthermia*, 41, 2331704.
- Hong, K. & Georgiades, C. 2010. Radiofrequency ablation: mechanism of action and devices. *J Vasc Interv Radiol*, 21, S179-86.

- Houston, B. J., Nixon, B., King, B. V., De Iuliis, G. N. & Aitken, R. J. 2016. The effects of radiofrequency electromagnetic radiation on sperm function. *Reproduction*, 152, R263-76.
- Hussein, M., Toraih, E., Issa, P. P., Omar, M., Aboueisha, M., Buti, Y., Issa, C. P., Albuck, A. L., Cironi, K., Attia, A. S., Laforteza, A. C., Shama, M. & Kandil, E. 2024. From ablation to operation: Unraveling the surgical outcomes and complications of thyroidectomy after radiofrequency ablation. *Surgery*, 175, 146-52.
- Hwang, S., Wook-Seo, J., Hoon-Lee, B., Hyun-Bae, S. & Kyung-Lee, Y. 2021. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatic tumors: factors affecting baseline impedance. *Diagn Interv Radiol*, 27, 386-93.
- Ihnat, P., Ihnat Rudinska, L. & Zonca, P. 2014. Radiofrequency energy in surgery: state of the art. *Surg Today*, 44, 985-91.
- Imperatore, N., De Nucci, G., Mandelli, E. D., De Leone, A., Zito, F. P., Lombardi, G. & Manes, G. 2020. Endoscopic ultrasound-guided radiofrequency ablation of pancreatic neuroendocrine tumors: a systematic review of the literature. *Endosc Int Open*, 8, E1759-64.
- Irastorza, R. M., Hadid, C. & Berjano, E. 2024. Effect of dispersive electrode position (anterior vs. posterior) in epicardial radiofrequency ablation of ventricular wall: A computer simulation study. *Int J Numer Method Biomed Eng*, 40, e3847.
- Irnich, W. 1989. [The fundamental law of electrostimulation]. *Biomed Tech*, 34, 158-67.
- Ishikawa, T., Kubota, T., Horigome, R., Kimura, N., Honda, H., Iwanaga, A., Seki, K., Honma, T. & Yoshida, T. 2013. Radiofrequency ablation during continuous saline infusion can extend ablation margins. *World J Gastroenterol*, 19, 1278-82.
- Issa, P. P., Cironi, K., Rezvani, L. & Kandil, E. 2024. Radiofrequency ablation of thyroid nodules: a clinical review of treatment complications. *Gland Surg*, 13, 77-86.
- Jia, L., Bin, H., Bing, H. & Jin, H. 2021. CEUS examination of the outcome of radiofrequency ablation of canine prostate lesions. *Minim Invasive Ther Allied Technol*, 30, 334-40.
- Jiang, A. N., Wang, S., Yang, W., Zhao, K., Bai, X. M., Zhang, Z. Y., Wu, W., Chen, M. H. & Yan, K. 2019. The Role of a Curved Electrode with Controllable Direction in the Radiofrequency Ablation of Liver Tumors Behind Large Vessels. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 42, 893-904.
- Jiao, L., Zhang, T., Gao, P., Zhou, C., Mei, X., Zhang, W., Lu, Y., Zhang, L., Zhou, Z., Yu, Z. & He, M. 2024. Exploring and validating heating dynamics in a radio-frequency electromagnetic field-based resonant chamber for mouse hyperthermia research. *Electromagn Biol Med*, 43, 164-75.

- Jo, M. G., Lee, M. W., Ahn, S., Kang, T. W., Song, K. D., Cha, D. I., Min, J. H. & Rhim, H. 2023. Percutaneous radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma in a recent cohort at a tertiary cancer center: incidence and factors associated with major complications and unexpected hospitalization events. *Ultrasonography*, 42, 41-53.
- Joffre, O., Nolte, M. A., Sporri, R. & Reis E Sousa, C. 2009. Inflammatory signals in dendritic cell activation and the induction of adaptive immunity. *Immunol Rev*, 227, 234-47.
- Jonica, E. R. & Wagh, M. S. 2020. Endoscopic treatment of symptomatic insulinoma with a new EUS-guided radiofrequency ablation device. *VideoGIE*, 5, 483-5.
- Josefowicz, S. Z., Lu, L. F. & Rudensky, A. Y. 2012. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu Rev Immunol*, 30, 531-64.
- Kafanov, S., Kempainen, A., Pashkin, Y. A., Meschke, M., Tsai, J. S. & Pekola, J. P. 2009. Single-electronic radio-frequency refrigerator. *Phys Rev Lett*, 103, 120801.
- Karaki, W., Akyildiz, A., De, S. & Borca Tasciuc, D. A. 2017. Energy Dissipation in *Ex vivo* Porcine Liver During Electrosurgery. *IEEE Trans Biomed Eng*, 64, 1211-7.
- Kawano, M. 1989. An experimental study of percutaneous absolute ethanol injection therapy for small hepatocellular carcinoma: effects of absolute ethanol on the healthy canine liver. *Gastroenterol Jpn*, 24, 663-9.
- Keidar, M., Walk, R., Shashurin, A., Srinivasan, P., Sandler, A., Dasgupta, S., Ravi, R., Guerrero-Preston, R. & Trink, B. 2011. Cold plasma selectivity and the possibility of a paradigm shift in cancer therapy. *Br J Cancer*, 105, 1295-301.
- Kennedy, J. E. 2005. High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours. *Nat Rev Cancer*, 5, 321-7.
- Kepp, O., Senovilla, L., Vitale, I., Vacchelli, E., Adjemian, S., Agostinis, P., Apetoh, L., Aranda, F., Barnaba, V., Bloy, N., Bracci, L., Breckpot, K., Brough, D., Buque, A., Castro, M. G., Cirone, M., Colombo, M. I., Cremer, I., Demaria, S., Dini, L., Eliopoulos, A. G., Faggioni, A., Formenti, S. C., Fucikova, J., Gabriele, L., Gaigl, U. S., Galon, J., Garg, A., Ghiringhelli, F., Giese, N. A., Guo, Z. S., Hemminki, A., Herrmann, M., Hodge, J. W., Holdenrieder, S., Honeychurch, J., Hu, H. M., Huang, X., Illidge, T. M., Kono, K., Korbelik, M., Krysko, D. V., Loi, S., Lowenstein, P. R., Lugli, E., Ma, Y., Madeo, F., Manfredi, A. A., Martins, I., Mavilio, D., Menger, L., Merendino, N., Michaud, M., Mignot, G., Mossman, K. L., Multhoff, G., Oehler, R., Palombo, F., Panaretakis, T., Pol, J., Proietti, E., Ricci, J. E., Riganti, C., Rovere-Querini, P., Rubartelli, A., Sistigu, A., Smyth, M. J., Sonnemann, J., Spisek, R., Stagg, J., Sukkurwala, A. Q., Tartour, E., Thorburn, A., Thorne, S. H., Vandenabeele, P., Velotti, F., Workenhe, S. T., Yang, H., Zong, W. X., Zitvogel, L., Kroemer, G. & Galluzzi, L. 2014. Consensus guidelines for the detection of immunogenic cell death. *Oncoimmunology*, 3, e955691.

- Kho, A. S., Ooi, E. H., Foo, J. J. & Ooi, E. T. 2021. Role of saline concentration during saline-infused radiofrequency ablation: Observation of secondary Joule heating along the saline-tissue interface. *Comput Biol Med*, 128, 104112.
- Kho, A. S. K., Foo, J. J., Ooi, E. T. & Ooi, E. H. 2020. Shape-shifting thermal coagulation zone during saline-infused radiofrequency ablation: A computational study on the effects of different infusion location. *Comput Methods Programs Biomed*, 184, 105289.
- Kho, A. S. K., Ooi, E. H., Foo, J. J. & Ooi, E. T. 2024. Saline-Infused Radiofrequency Ablation: A Review on the Key Factors for a Safe and Reliable Tumour Treatment. *IEEE Rev Biomed Eng*, 17, 310-21.
- Kienle, A., Forster, F. K. & Hibst, R. 2004. Anisotropy of light propagation in biological tissue. *Opt Lett*, 29, 2617-9.
- Kim, J. W., Shin, S. S., Heo, S. H., Hong, J. H., Lim, H. S., Seon, H. J., Hur, Y. H., Park, C. H., Jeong, Y. Y. & Kang, H. K. 2015. Ultrasound-Guided Percutaneous Radiofrequency Ablation of Liver Tumors: How We Do It Safely and Completely. *Korean J Radiol*, 16, 1226-39.
- Kim, Y. K., Lee, J. M., Kim, S. W. & Kim, C. S. 2003. Combined radiofrequency ablation and hot saline injection in rabbit liver. *Invest Radiol*, 38, 725-32.
- Kim, Y. S., Lee, W. J., Rhim, H., Lim, H. K., Choi, D. & Lee, J. Y. 2010. The minimal ablative margin of radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma (> 2 and < 5 cm) needed to prevent local tumor progression: 3D quantitative assessment using CT image fusion. *AJR Am J Roentgenol*, 195, 758-65.
- Kim, Y. S., Rhim, H., Choi, M. J., Lim, H. K. & Choi, D. 2008. High-intensity focused ultrasound therapy: an overview for radiologists. *Korean J Radiol*, 9, 291-302.
- Kim, Y. S., Rhim, H., Lim, H. K., Choi, D., Lee, M. W. & Park, M. J. 2011. Coagulation necrosis induced by radiofrequency ablation in the liver: histopathologic and radiologic review of usual to extremely rare changes. *Radiographics*, 31, 377-90.
- Kodre, V., Cemazar, M., Pecar, J., Sersa, G., Cor, A. & Tozon, N. 2009. Electrochemotherapy compared to surgery for treatment of canine mast cell tumours. *In vivo*, 23, 55-62.
- Kolaczkowska, E. & Kubes, P. 2013. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 13, 159-75.
- Kong, W. T., Zhang, W. W., Qiu, Y. D., Zhou, T., Qiu, J. L., Zhang, W. & Ding, Y. T. 2009. Major complications after radiofrequency ablation for liver tumors: analysis of 255 patients. *World J Gastroenterol*, 15, 2651-6.

- Kotake, Y., Kanawati, J. & Kumar, S. 2022. Will the insulated-tip radiofrequency catheter transform ablation procedures? *J Cardiovasc Electrophysiol*, 33, 1157-9.
- Kroemer, G., Galluzzi, L., Kepp, O. & Zitvogel, L. 2013. Immunogenic cell death in cancer therapy. *Annu Rev Immunol*, 31, 51-72.
- Krysko, D. V., Garg, A. D., Kaczmarek, A., Krysko, O., Agostinis, P. & Vandenabeele, P. 2012. Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 12, 860-75.
- Kulkarni, C. B., Pullara, S. K., C, S. R. & Moorthy, S. 2024. Complications of Percutaneous Radiofrequency Ablation for Hepatocellular Carcinoma. *Acad Radiol*, 31, 2987-3003.
- Laeseke, P. F., Sampson, L. A., Haemmerich, D., Brace, C. L., Fine, J. P., Frey, T. M., Winter, T. C., 3rd & Lee, F. T., Jr. 2005. Multiple-electrode radiofrequency ablation: simultaneous production of separate zones of coagulation in an *in vivo* porcine liver model. *J Vasc Interv Radiol*, 16, 1727-35.
- Lakhtakia, S., Ramchandani, M., Galasso, D., Gupta, R., Venugopal, S., Kalpala, R. & Reddy, D. N. 2016. EUS-guided radiofrequency ablation for management of pancreatic insulinoma by using a novel needle electrode (with videos). *Gastrointest Endosc*, 83, 234-9.
- Lamkanfi, M. & Dixit, V. M. 2014. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*, 157, 1013-22.
- Leal, R. O., Frau Pascual, L. & Hernandez, J. 2018. The Use of Percutaneous Ultrasound-Guided Radiofrequency Heat Ablation for Treatment of Primary Hyperparathyroidism in Eight Dogs: Outcome and Complications. *Vet Sci*, 5.
- Lee, D. H. & Lee, J. M. 2018. Recent Advances in the Image-Guided Tumor Ablation of Liver Malignancies: Radiofrequency Ablation with Multiple Electrodes, Real-Time Multimodality Fusion Imaging, and New Energy Sources. *Korean J Radiol*, 19, 545-59.
- Lee, J. M., Choi, S. H., Park, H. S., Lee, M. W., Han, C. J., Choi, J. I., Choi, J. Y., Hong, S. H., Han, J. K. & Choi, B. I. 2005. Radiofrequency thermal ablation in canine femur: evaluation of coagulation necrosis reproducibility and MRI-histopathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol*, 185, 661-7.
- Lee, J. M., Han, J. K., Kim, S. H., Lee, J. Y., Kim, D. J., Lee, M. W., Cho, G. G., Han, C. J. & Choi, B. I. 2004a. Saline-enhanced hepatic radiofrequency ablation using a perfused-cooled electrode: comparison of dual probe bipolar mode with monopolar and single probe bipolar modes. *Korean J Radiol*, 5, 121-7.
- Lee, J. M., Jin, G. Y., Goldberg, S. N., Lee, Y. C., Chung, G. H., Han, Y. M., Lee, S. Y. & Kim, C. S. 2004b. Percutaneous radiofrequency ablation for inoperable non-small cell lung cancer and metastases: preliminary report. *Radiology*, 230, 125-34.

- Lee, J. M., Kim, S. W., Li, C. A., Youk, J. H., Kim, Y. K., Jin, Z., Chung, M. J. & Lee, M. S. 2002. Saline-enhanced radiofrequency thermal ablation of the lung: a feasibility study in rabbits. *Korean J Radiol*, 3, 245-53.
- Lee, J. M., Kim, Y. K., Kim, S. W., Han, J. K., Kim, S. H. & Choi, B. I. 2004c. Combined radiofrequency ablation and acetic acid hypertonic saline solution instillation: an *in vivo* study of rabbit liver. *Korean J Radiol*, 5, 31-8.
- Lee, M. W., Rhim, H., Cha, D. I., Kim, Y. J. & Lim, H. K. 2013. Planning US for percutaneous radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinomas (1-3 cm): value of fusion imaging with conventional US and CT/MR images. *J Vasc Interv Radiol*, 24, 958-65.
- Lencioni, R. A., Allgaier, H. P., Cioni, D., Olschewski, M., Deibert, P., Crocetti, L., Frings, H., Laubenberger, J., Zuber, I., Blum, H. E. & Bartolozzi, C. 2003. Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radio-frequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection. *Radiology*, 228, 235-40.
- Liang, J. P., Li, D. Y. & Liu, B. 2000. [Radiofrequency treatment of hemangioma of nasal cavity under nasal endoscopy]. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi*, 14, 456-7.
- Liao, C., Zhang, G., Huang, R., Zeng, L., Chen, B., Dai, H., Tang, K., Lin, R. & Huang, Y. 2023. Inducing the Abscopal Effect in Liver Cancer Treatment: The Impact of Microwave Ablation Power Levels and PD-1 Antibody Therapy. *Pharmaceuticals*, 16.
- Lim, J. Y. & Kuo, J. H. 2022. Thyroid Nodule Radiofrequency Ablation: Complications and Clinical Follow Up. *Tech Vasc Interv Radiol*, 25, 100824.
- Limmer, S., Huppert, P. E., Juette, V., Lenhart, A., Welte, M. & Wietholtz, H. 2009. Radiofrequency ablation of solitary pancreatic insulinoma in a patient with episodes of severe hypoglycemia. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 21, 1097-101.
- Lin, G. X., Sharma, S., Liu, Y., Jabri, H. & Kim, J. S. 2022. Changes in Temperature Following Radiofrequency Thermal Ablation of the Nucleus Pulposus and Annulus Fibrosus: A Cadaveric Study. *Pain Physician*, 25, E1073-9.
- Lin, L., McCraw, M. R., Uluotku, B., Liu, Y., Yan, D., Soni, V., Horkowitz, A., Yao, X., Limanowski, R., Solares, S. D., Beilis, I. & Keidar, M. 2023. Cell Membrane Oscillations under Radiofrequency Electromagnetic Modulation. *Langmuir*, 39, 3320-31.
- Lin, S. M., Lin, C. J., Chung, H. J., Hsu, C. W. & Peng, C. Y. 2003. Power rolloff during interactive radiofrequency ablation can enhance necrosis when treating hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol*, 180, 151-7.
- Liu, N., Gao, J., Liu, Y., Li, T., Feng, K., Ma, K., Dong, J., Li, X., Wang, S. & Bie, P. 2012. Determining a minimal safe distance to prevent thermal injury to intrahepatic bile ducts in radiofrequency ablation of the liver: a study in dogs. *Int J Hyperthermia*, 28, 210-7.

- Liu, R., Duan, S., Cao, H., Cao, G., Chang, Z., Zhang, Y., Li, Y., Wu, Y., Liu, L. & Zhang, L. 2020. A pilot study of the shapes of ablation lesions in the canine prostate by laser, radiofrequency and microwave and their clinical significance. *PLoS One*, 15, e0223229.
- Livraghi, T., Festi, D., Monti, F., Salmi, A. & Vettori, C. 1986. US-guided percutaneous alcohol injection of small hepatic and abdominal tumors. *Radiology*, 161, 309-12.
- Livraghi, T., Goldberg, S. N., Lazzaroni, S., Meloni, F., Solbiati, L. & Gazelle, G. S. 1999. Small hepatocellular carcinoma: treatment with radio-frequency ablation versus ethanol injection. *Radiology*, 210, 655-61.
- Livraghi, T., Salmi, A., Bolondi, L., Marin, G., Arienti, V., Monti, F. & Vettori, C. 1988. Small hepatocellular carcinoma: percutaneous alcohol injection--results in 23 patients. *Radiology*, 168, 313-7.
- Lohr, J. & Kulwicki, A. 2010. Radiofrequency ablation: evolution of a treatment. *Semin Vasc Surg*, 23, 90-100.
- Long, C. D., Goldstein, R. E., Hornof, W. J., Feldman, E. C. & Nyland, T. G. 1999. Percutaneous ultrasound-guided chemical parathyroid ablation for treatment of primary hyperparathyroidism in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 215, 217-21.
- Lowe, R., Gavazza, A., Impellizeri, J. A., Soden, D. M. & Lubas, G. 2017. The treatment of canine mast cell tumours with electrochemotherapy with or without surgical excision. *Vet Comp Oncol*, 15, 775-84.
- Lu, D. S., Raman, S. S., Limanond, P., Aziz, D., Economou, J., Busuttil, R. & Sayre, J. 2003. Influence of large peritumoral vessels on outcome of radiofrequency ablation of liver tumors. *J Vasc Interv Radiol*, 14, 1267-74.
- Lu, D. S., Raman, S. S., Vodopich, D. J., Wang, M., Sayre, J. & Lassman, C. 2002. Effect of vessel size on creation of hepatic radiofrequency lesions in pigs: assessment of the "heat sink" effect. *AJR Am J Roentgenol*, 178, 47-51.
- Lu, L. L., Suscovich, T. J., Fortune, S. M. & Alter, G. 2018. Beyond binding: antibody effector functions in infectious diseases. *Nat Rev Immunol*, 18, 46-61.
- Lubner, M. G., Brace, C. L., Hinshaw, J. L. & Lee, F. T., Jr. 2010. Microwave tumor ablation: mechanism of action, clinical results, and devices. *J Vasc Interv Radiol*, 21, S192-203.
- Lv, Y. G., Deng, Z. S. & Liu, J. 2005. 3-D numerical study on the induced heating effects of embedded micro/nanoparticles on human body subject to external medical electromagnetic field. *IEEE Trans Nanobioscience*, 4, 284-94.
- Ma, Y., Wang, J., Wu, T., Zheng, B., Yin, T., Lian, Y. & Ren, J. 2024. *In vitro* heat insulation efficacy of 5% dextrose versus 0.9% saline during radiofrequency ablation. *Ultrasonography*, 43, 376-83.

- Maeda, M., Saeki, I., Sakaida, I., Aikata, H., Araki, Y., Ogawa, C., Kariyama, K., Nouse, K., Kitamoto, M., Kobashi, H., Sato, S., Shibata, H., Joko, K., Takaki, S., Takabatake, H., Tsutsui, A., Takaguchi, K., Tomonari, T., Nakamura, S., Nagahara, T., Hiraoka, A., Matono, T., Koda, M., Mandai, M., Mannami, T., Mitsuda, A., Moriya, T., Yabushita, K., Tani, J., Yagi, T. & Yamasaki, T. 2020. Complications after Radiofrequency Ablation for Hepatocellular Carcinoma: A Multicenter Study Involving 9,411 Japanese Patients. *Liver Cancer*, 9, 50-62.
- Maglietti, F., Tellado, M., Olaiz, N., Michinski, S. & Marshall, G. 2017. Minimally Invasive Electrochemotherapy Procedure for Treating Nasal Duct Tumors in Dogs using a Single Needle Electrode. *Radiol Oncol*, 51, 422-30.
- Maiorino, L., Dassler-Plenker, J., Sun, L. & Egeblad, M. 2022. Innate Immunity and Cancer Pathophysiology. *Annu Rev Pathol*, 17, 425-57.
- Malawer, M. M., Marks, M. R., McChesney, D., Piasio, M., Gunther, S. F. & Schmookler, B. M. 1988. The effect of cryosurgery and polymethylmethacrylate in dogs with experimental bone defects comparable to tumor defects. *Clin Orthop Relat Res*, 299-310.
- Mali, B., Jarm, T., Snoj, M., Sersa, G. & Miklavcic, D. 2013. Antitumor effectiveness of electrochemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Surg Oncol*, 39, 4-16.
- Malik, K., Benzon, H. T. & Walega, D. 2011. Water-cooled radiofrequency: a neuroablative or a neuromodulatory modality with broader applications? *Case Rep Anesthesiol*, 2011, 263101.
- Marabelle, A., Andtbacka, R., Harrington, K., Melero, I., Leidner, R., De Baere, T., Robert, C., Ascierto, P. A., Baurain, J. F., Imperiale, M., Rahimian, S., Tersago, D., Klumper, E., Hendriks, M., Kumar, R., Stern, M., Ohrling, K., Massacesi, C., Tchakov, I., Tse, A., Douillard, J. Y., Taberero, J., Haanen, J. & Brody, J. 2018. Starting the fight in the tumor: expert recommendations for the development of human intratumoral immunotherapy (HIT-IT). *Ann Oncol*, 29, 2163-74.
- Marin, L. M., Iazbik, M. C., Zaldivar-Lopez, S., Guillaumin, J., McLoughlin, M. A. & Couto, C. G. 2012. Epsilon aminocaproic acid for the prevention of delayed postoperative bleeding in retired racing greyhounds undergoing gonadectomy. *Vet Surg*, 41, 594-603.
- Martel, J., Bueno, A., Dominguez, M. P., Llorens, P., Quiros, J. & Delgado, C. 2008. Percutaneous radiofrequency ablation: relationship between different probe types and procedure time on length and extent of osteonecrosis in dog long bones. *Skeletal Radiol*, 37, 147-52.
- Marx, M., Trosic-Ivanisevic, T., Caillol, F., Demartines, N., Schoepfer, A., Pesenti, C., Ratone, J. P., Robert, M., Giovannini, M. & Godat, S. 2022. EUS-guided radiofrequency ablation for pancreatic insulinoma: experience in 2 tertiary centers. *Gastrointest Endosc*, 95, 1256-63.

- Mazzaccari, K., Boston, S. E., Toskich, B. B., Bowles, K. & Case, J. B. 2017. Video-assisted microwave ablation for the treatment of a metastatic lung lesion in a dog with appendicular osteosarcoma and hypertrophic osteopathy. *Vet Surg*, 46, 1161-5.
- McDonald, B., Pittman, K., Menezes, G. B., Hirota, S. A., Slaba, I., Waterhouse, C. C., Beck, P. L., Muruve, D. A. & Kubes, P. 2010. Intravascular danger signals guide neutrophils to sites of sterile inflammation. *Science*, 330, 362-6.
- McGahan, J. P., Brock, J. M., Tesluk, H., Gu, W. Z., Schneider, P. & Browning, P. D. 1992. Hepatic ablation with use of radio-frequency electrocautery in the animal model. *J Vasc Interv Radiol*, 3, 291-7.
- McGahan, J. P., Browning, P. D., Brock, J. M. & Tesluk, H. 1990. Hepatic ablation using radiofrequency electrocautery. *Invest Radiol*, 25, 267-70.
- McGahan, J. P. & Van Raalte, V. A. 2005. History of Ablation. En: Vansonnenberg, E., McMullen, W. N., Solbiati, L., Livraghi, T., Müller, P. R. & Silverman, S. G. (eds.) *Tumor Ablation: Principles and Practice*. Springer New York.
- McHale, A. P., Callan, J. F., Nomikou, N., Fowley, C. & Callan, B. 2016. Sonodynamic Therapy: Concept, Mechanism and Application to Cancer Treatment. *Adv Exp Med Biol*, 880, 429-50.
- McVary, K. T., Gange, S. N., Gittelman, M. C., Goldberg, K. A., Patel, K., Shore, N. D., Levin, R. M., Rousseau, M., Beahrs, J. R., Kaminetsky, J., Cowan, B. E., Cantrill, C. H., Mynderse, L. A., Ulchaker, J. C., Larson, T. R., Dixon, C. M. & Roehrborn, C. G. 2016. Minimally Invasive Prostate Convective Water Vapor Energy Ablation: A Multicenter, Randomized, Controlled Study for the Treatment of Lower Urinary Tract Symptoms Secondary to Benign Prostatic Hyperplasia. *J Urol*, 195, 1529-38.
- Melero, I., Berman, D. M., Aznar, M. A., Korman, A. J., Perez Gracia, J. L. & Haanen, J. 2015. Evolving synergistic combinations of targeted immunotherapies to combat cancer. *Nat Rev Cancer*, 15, 457-72.
- Mellman, I., Coukos, G. & Dranoff, G. 2011. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*, 480, 480-9.
- Merad, M., Sathe, P., Helft, J., Miller, J. & Mortha, A. 2013. The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annu Rev Immunol*, 31, 563-604.
- Mercadal, B., Beitel-White, N., Aycock, K. N., Castellvi, Q., Davalos, R. V. & Ivorra, A. 2020. Dynamics of Cell Death After Conventional IRE and H-FIRE Treatments. *Ann Biomed Eng*, 48, 1451-62.

- Monleon, E., Lucia, O., Guemes, A., Lopez-Alonso, B., Arribas, D., Sarnago, H., Hernaez, A., Burdio, J. M. & Junquera, C. 2022. Liver tissue remodeling following ablation with irreversible electroporation in a porcine model. *Front Vet Sci*, 9, 1014648.
- Mueller, S. N., Gebhardt, T., Carbone, F. R. & Heath, W. R. 2013. Memory T cell subsets, migration patterns, and tissue residence. *Annu Rev Immunol*, 31, 137-61.
- Mulier, S., Mulier, P., Ni, Y., Miao, Y., Dupas, B., Marchal, G., De Wever, I. & Michel, L. 2002. Complications of radiofrequency coagulation of liver tumours. *Br J Surg*, 89, 1206-22.
- Murphy, S. M., Lawrence, J. A., Schmiedt, C. W., Davis, K. W., Lee, F. T., Jr., Forrest, L. J. & Bjorling, D. E. 2011. Image-guided transnasal cryoablation of a recurrent nasal adenocarcinoma in a dog. *J Small Anim Pract*, 52, 329-33.
- Murray, P. J., Allen, J. E., Biswas, S. K., Fisher, E. A., Gilroy, D. W., Goerdt, S., Gordon, S., Hamilton, J. A., Ivashkiv, L. B., Lawrence, T., Locati, M., Mantovani, A., Martinez, F. O., Mege, J. L., Mosser, D. M., Natoli, G., Saeij, J. P., Schultze, J. L., Shirey, K. A., Sica, A., Suttles, J., Udalova, I., Van Ginderachter, J. A., Vogel, S. N. & Wynn, T. A. 2014. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*, 41, 14-20.
- Nakagomi, R., Tateishi, R., Mikami, S., Wake, T., Kinoshita, M. N., Nakatsuka, T., Minami, T., Sato, M., Uchino, K., Enooku, K., Nakagawa, H., Asaoka, Y., Shiina, S. & Koike, K. 2021. Infectious complications related to radiofrequency ablation of liver tumors: The role of antibiotics. *PLoS One*, 16, e0259641.
- Nakamuta, M., Kohjima, M., Morizono, S., Yoshimoto, T., Miyagi, Y., Sakai, H., Enjoji, M. & Kotoh, K. 2006. Comparison of tissue pressure and ablation time between the LeVeen and cool-tip needle methods. *Comp Hepatol*, 5, 10.
- Napoletano, C., Taurino, F., Biffoni, M., De Majo, A., Coscarella, G., Bellati, F., Rahimi, H., Pauselli, S., Pellicciotta, I., Burchell, J. M., Gaspari, L. A., Ercoli, L., Rossi, P. & Rughetti, A. 2008. RFA strongly modulates the immune system and anti-tumor immune responses in metastatic liver patients. *Int J Oncol*, 32, 481-90.
- Nath, S., Dimarco, J. P., Gallop, R. G., McRury, I. D. & Haines, D. E. 1996. Effects of dispersive electrode position and surface area on electrical parameters and temperature during radiofrequency catheter ablation. *Am J Cardiol*, 77, 765-7.
- Nathan, C. 2022. Nonresolving inflammation redux. *Immunity*, 55, 592-605.
- Nathan, C. & Ding, A. 2010. Nonresolving inflammation. *Cell*, 140, 871-82.
- Nemcek, A. A. 2006. Complications of radiofrequency ablation of neoplasms. *Semin Intervent Radiol*, 23, 177-87.

- Nguyen, D. M., Andersen, T., Qian, P., Barry, T. & McEwan, A. 2020. Electrical Impedance Tomography for monitoring cardiac radiofrequency ablation: a scoping review of an emerging technology. *Med Eng Phys*, 84, 36-50.
- Nguyen, D. T., Gerstenfeld, E. P., Tzou, W. S., Jurgens, P. T., Zheng, L., Schuller, J., Zipse, M. & Sauer, W. H. 2017. Radiofrequency Ablation Using an Open Irrigated Electrode Cooled with Half-Normal Saline. *JACC Clin Electrophysiol*, 3, 1103-10.
- Nikfarjam, M., Muralidharan, V. & Christophi, C. 2005. Mechanisms of focal heat destruction of liver tumors. *J Surg Res*, 127, 208-23.
- Nikfarjam, M., Muralidharan, V., Malcontenti-Wilson, C., McLaren, W. & Christophi, C. 2006. Impact of blood flow occlusion on liver necrosis following thermal ablation. *ANZ J Surg*, 76, 84-91.
- Nimmerjahn, F. & Ravetch, J. V. 2008. Fcγ receptors as regulators of immune responses. *Nat Rev Immunol*, 8, 34-47.
- Nishino, M., Jackman, D. M., Hatabu, H., Yeap, B. Y., Cioffredi, L. A., Yap, J. T., Janne, P. A., Johnson, B. E. & Van Den Abbeele, A. D. 2010. New Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) guidelines for advanced non-small cell lung cancer: comparison with original RECIST and impact on assessment of tumor response to targeted therapy. *AJR Am J Roentgenol*, 195, W221-8.
- Nittby, H., Grafstrom, G., Eberhardt, J. L., Malmgren, L., Brun, A., Persson, B. R. & Salford, L. G. 2008. Radiofrequency and extremely low-frequency electromagnetic field effects on the blood-brain barrier. *Electromagn Biol Med*, 27, 103-26.
- O'Connor, J. L. & Bloom, D. A. 1996. William T. Bovie and electrosurgery. *Surgery*, 119, 390-6.
- Organ, L. W. 1976. Electrophysiologic principles of radiofrequency lesion making. *Appl Neurophysiol*, 39, 69-76.
- Osei, K., Sulkin, M. S., Hamann, J. J., Hughes, C., Shuros, A., Nagy, T., Kapa, S. & Meyers, J. 2021. Local impedance-guided radiofrequency ablation with standard and high power: Results of a preclinical investigation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 32, 2060-2068.
- Palucka, K. & Banchereau, J. 2012. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer*, 12, 265-77.
- Pannone, L., Eltsov, I., Ramak, R., Cabrita, D., Verherstraeten, M., Gauthey, A., Sorgente, A., Monaco, C., Overeinder, I., Bala, G., Almorad, A., Stroker, E., Sieira, J., Brugada, P., La Meir, M., Chierchia, G. B. & De Asmundis, C. 2022. Universal Method of Compatibility Assessment for Novel Ablation Technologies with Different 3D Navigation Systems. *Front Cardiovasc Med*, 9, 917218.
- Pardoll, D. M. 2012. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 12, 252-64.

- Park, J. G., Park, S. Y., Tak, W. Y., Kweon, Y. O., Jang, S. Y., Lee, Y. R., Hur, K., Lee, H. J. & Lee, H. W. 2017. Early complications after percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: an analysis of 1,843 ablations in 1,211 patients in a single centre: experience over 10 years. *Clin Radiol*, 72, 692 e9-15.
- Park, S. J., Kim, J. H., Yoon, J. H. & Lee, J. M. 2023. Comparison of Ablation Performance between Octopus Multipurpose Electrode and Conventional Octopus Electrode. *Korean J Radiol*, 24, 86-94.
- Park, Y., Won, D. S., An, J. S., Kim, S. H., Ryu, D. S., Zeng, C. H., Kang, J. M., Kim, J. W., Kim, H. S., Park, J. H. & Lee, S. S. 2024. Novel self-expandable stent-based endobiliary radiofrequency ablation for unresectable malignant biliary obstruction. *Gastrointest Endosc*, 100, 557-566 e10.
- Partridge, B. R., Kani, Y., Lorenzo, M. F., Campelo, S. N., Allen, I. C., Hinckley, J., Hsu, F. C., Verbridge, S. S., Robertson, J. L., Davalos, R. V. & Rossmeisl, J. H. 2022. High-Frequency Irreversible Electroporation (H-FIRE) Induced Blood-Brain Barrier Disruption Is Mediated by Cytoskeletal Remodeling and Changes in Tight Junction Protein Regulation. *Biomedicines*, 10.
- Patterson, E. J., Scudamore, C. H., Owen, D. A., Nagy, A. G. & Buczkowski, A. K. 1998. Radiofrequency ablation of porcine liver *in vivo*: effects of blood flow and treatment time on lesion size. *Ann Surg*, 227, 559-65.
- Pearce, J. A. 2015. FEM numerical model study of electrosurgical dispersive electrode design parameters. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2015, 2559-62.
- Pekola, J. P., Giazotto, F. & Saira, O. P. 2007. Radio-frequency single-electron refrigerator. *Phys Rev Lett*, 98, 037201.
- Pennes, H. H. 1948. Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting human forearm. *J Appl Physiol*, 1, 93-122.
- Philips, P., Hays, D. & Martin, R. C. 2013. Irreversible electroporation ablation (IRE) of unresectable soft tissue tumors: learning curve evaluation in the first 150 patients treated. *PLoS One*, 8, e76260.
- Pillai, K., Akhter, J., Chua, T. C., Shehata, M., Alzahrani, N., Al-Alem, I. & Morris, D. L. 2015. Heat sink effect on tumor ablation characteristics as observed in monopolar radiofrequency, bipolar radiofrequency, and microwave, using *ex vivo* calf liver model. *Medicine*, 94, e580.
- Pratschke, K. M., Ryan, J., McAlinden, A. & McLauchlan, G. 2015. Pancreatic surgical biopsy in 24 dogs and 19 cats: postoperative complications and clinical relevance of histological findings. *J Small Anim Pract*, 56, 60-6.

- Procházka, V., Hlavsa, J., Andrašina, T., Starý, K., Můčková, K., Kala, Z. & Válek, V. 2012. Laparoscopic radiofrequency ablation of functioning pancreatic insulinoma: video case report. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 22, e312-5.
- Qian, P. C., Nguyen, D. M., Barry, M. A., Tran, V., Lu, J., Thiagalingam, A., Thomas, S. P. & McEwan, A. 2021. Optimizing Impedance Change Measurement During Radiofrequency Ablation Enables More Accurate Characterization of Lesion Formation. *JACC Clin Electrophysiol*, 7, 471-81.
- Qin, Y., Yang, L., Fu, F., Dai, M. & Zhang, L. 2023. [Study on the difference of high frequency dielectric properties of biological tissues measured by air and packed coaxial probe]. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi*, 40, 886-93.
- Qiu-Jie, S., Zhi-Yu, H., Xiao-Xia, N., Wen-Yuan, S., Yuan-Yuan, S., Liu, H., Xin, L. & Ping, L. 2011. Feasible temperature of percutaneous microwave ablation of dog liver abutting the bowel. *Int J Hyperthermia*, 27, 124-31.
- Quaranta, V., Manenti, G., Bolacchi, F., Cossu, E., Pistolese, C. A., Buonomo, O. C., Carotenuto, L., Piconi, C. & Simonetti, G. 2007. FEM analysis of RF breast ablation: multiprobe versus cool-tip electrode. *Anticancer Res*, 27, 775-84.
- Rank, K., Lynch, A. M., Green, R., Reed-Jones, L., Harrell, K. & Ueda, Y. 2023. Case report: Laryngospasm following ethanol ablation of a parathyroid nodule in a dog with primary hyperparathyroidism. *Front Vet Sci*, 10, 1201663.
- Rasor, L., Pollard, R. & Feldman, E. C. 2007. Retrospective evaluation of three treatment methods for primary hyperparathyroidism in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 43, 70-7.
- Reddy, I., Elmaadawy, S., Furlani, E. P. & Jornet, J. M. 2023. Photothermal effects of terahertz-band and optical electromagnetic radiation on human tissues. *Sci Rep*, 13, 14643.
- Rhim, H., Dodd, G. D., 3rd, Chintapalli, K. N., Wood, B. J., Dupuy, D. E., Hvizda, J. L., Sewell, P. E. & Goldberg, S. N. 2004. Radiofrequency thermal ablation of abdominal tumors: lessons learned from complications. *Radiographics*, 24, 41-52.
- Rhim, H., Goldberg, S. N., Dodd, G. D., 3rd, Solbiati, L., Lim, H. K., Tonolini, M. & Cho, O. K. 2001. Essential techniques for successful radio-frequency thermal ablation of malignant hepatic tumors. *Radiographics*, 21 Spec No, S17-35; discussion S36-9.
- Ribas, A. & Wolchok, J. D. 2018. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science*, 359, 1350-5.
- Rivas, R., Hijlkema, R. B., Cornelissen, L. J., Kwee, T. C., Jutte, P. C. & Van Ooijen, P. M. A. 2021. Effects of control temperature, ablation time, and background tissue in radiofrequency ablation of osteoid osteoma: A computer modeling study. *Int J Numer Method Biomed Eng*, 37, e3512.

- Rock, K. L., Latz, E., Ontiveros, F. & Kono, H. 2010. The sterile inflammatory response. *Annu Rev Immunol*, 28, 321-42.
- Rodrigues, J. A. & Correia, J. H. 2023. Photodynamic Therapy for Colorectal Cancer: An Update and a Look to the Future. *Int J Mol Sci*, 24.
- Rossi, S., Buscarini, E., Garbagnati, F., Di Stasi, M., Quaretti, P., Rago, M., Zangrandi, A., Andreola, S., Silverman, D. & Buscarini, L. 1998. Percutaneous treatment of small hepatic tumors by an expandable RF needle electrode. *AJR Am J Roentgenol*, 170, 1015-22.
- Rossi, S., Fornari, F., Pathies, C. & Buscarini, L. 1990. Thermal lesions induced by 480 KHz localized current field in guinea pig and pig liver. *Tumori*, 76, 54-7.
- Rossmann, C. & Haemmerich, D. 2014. Review of temperature dependence of thermal properties, dielectric properties, and perfusion of biological tissues at hyperthermic and ablation temperatures. *Crit Rev Biomed Eng*, 42, 467-92.
- Rubinsky, B., Onik, G. & Mikus, P. 2007. Irreversible electroporation: a new ablation modality--clinical implications. *Technol Cancer Res Treat*, 6, 37-48.
- Ruger, L., Yang, E., Gannon, J., Sheppard, H., Coutermarsh-Ott, S., Ziemlewicz, T. J., Dervisis, N., Allen, I. C., Daniel, G. B., Tuohy, J., Vlaisavljevich, E. & Klahn, S. 2023. Mechanical High-Intensity Focused Ultrasound (Histotripsy) in Dogs with Spontaneously Occurring Soft Tissue Sarcomas. *IEEE Trans Biomed Eng*, 70, 768-79.
- Rustagi, T. & Chhoda, A. 2017. Endoscopic Radiofrequency Ablation of the Pancreas. *Dig Dis Sci*, 62, 843-50.
- Rylander, M. N., Feng, Y., Bass, J. & Diller, K. R. 2007. Heat shock protein expression and injury optimization for laser therapy design. *Lasers Surg Med*, 39, 731-46.
- Ryu, M. O., Lee, S. H., Ahn, J. O., Song, W. J., Li, Q. & Youn, H. Y. 2018. Treatment of solid tumors in dogs using veterinary high-intensity focused ultrasound: A retrospective clinical study. *Vet J*, 234, 126-9.
- Sacks, D., McClenny, T. E., Cardella, J. F. & Lewis, C. A. 2003. Society of Interventional Radiology clinical practice guidelines. *J Vasc Interv Radiol*, 14, S199-202.
- Sadler, R. A., Fields, E. L. & Whittemore, J. C. 2016. Attempted ultrasound-guided ethanol ablation of a suspected pancreatic pseudocyst in a dog. *Can Vet J*, 57, 1169-74.
- Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T. & Ono, M. 2008. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*, 133, 775-87.
- Samuels, J. B., Katz, B. & Weiss, R. A. 2022. Radiofrequency Heating and High-Intensity Focused Electromagnetic Treatment Delivered Simultaneously: The First Sham-Controlled Randomized Trial. *Plast Reconstr Surg*, 149, 893e-900e.

- Sandhu, A. & Nguyen, D. T. 2020. Forging ahead: Update on radiofrequency ablation technology and techniques. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 31, 360-9.
- Santalla-Hernandez, A., Naveiro-Fuentes, M., Benito-Villena, R., Villegas-Alcazar, J., Lopez-Criado, M. S., Lara-Serrano, A., Parra, J. F., Alcazar, J. L. & Pelayo-Delgado, I. 2023. Complications of transvaginal radiofrequency ablation of fibroids: A 5-year experience. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol X*, 20, 100244.
- Sasaki, K., Porter, E., Rashed, E. A., Farrugia, L. & Schmid, G. 2022. Measurement and image-based estimation of dielectric properties of biological tissues -past, present, and future. *Phys Med Biol*, 67.
- Sato, M., Tateishi, R., Yasunaga, H., Matsui, H., Horiguchi, H., Fushimi, K. & Koike, K. 2017. Mortality and hemorrhagic complications associated with radiofrequency ablation for treatment of hepatocellular carcinoma in patients on hemodialysis for end-stage renal disease: A nationwide survey. *J Gastroenterol Hepatol*, 32, 1873-8.
- Sayag, D., Jacques, D., Thierry, F., Castell, Y., Aumann, M., Gauthier, O., Wavreille, V. & Tselikas, L. 2023. Combination of CT-Guided Microwave Ablation and Cementoplasty as a Minimally Invasive Limb-Sparing Approach in a Dog with Appendicular Osteosarcoma. *Animals*, 13.
- Schmidt, C., Zapf, A., Ozga, A. K., Canbay, A., Denzer, U., De Toni, E. N., Lohse, A. W., Schulze, K., Rosch, T., Stein, A., Wege, H. & Von Felden, J. 2024. Radiofrequency ablation via catheter and transpapillary access in patients with cholangiocarcinoma (ACTICCA-2 trial) - a multicenter, randomized, controlled, open-label investigator-initiated trial. *BMC Cancer*, 24, 931.
- Schroder, K. & Tschopp, J. 2010. The inflammasomes. *Cell*, 140, 821-32.
- Serhan, C. N. & Levy, B. D. 2018. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. *J Clin Invest*, 128, 2657-69.
- Seymour, L., Bogaerts, J., Perrone, A., Ford, R., Schwartz, L. H., Mandrekar, S., Lin, N. U., Litiere, S., Dancey, J., Chen, A., Hodi, F. S., Therasse, P., Hoekstra, O. S., Shankar, L. K., Wolchok, J. D., Ballinger, M., Caramella, C., De Vries, E. G. E. & Group, R. W. 2017. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *Lancet Oncol*, 18, e143-52.
- Sharma, P. & Allison, J. P. 2015. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential. *Cell*, 161, 205-14.
- Shiina, S., Teratani, T., Obi, S., Sato, S., Tateishi, R., Fujishima, T., Ishikawa, T., Koike, Y., Yoshida, H., Kawabe, T. & Omata, M. 2005. A randomized controlled trial of radiofrequency ablation with ethanol injection for small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 129, 122-30.

- Shiina, S., Yasuda, H., Muto, H., Tagawa, K., Unuma, T., Ibukuro, K., Inoue, Y. & Takanashi, R. 1987. Percutaneous ethanol injection in the treatment of liver neoplasms. *AJR Am J Roentgenol*, 149, 949-52.
- Shiozawa, K., Watanabe, M., Wakui, N., Ikehara, T., Iida, K. & Sumino, Y. 2009. Risk factors for the local recurrence of hepatocellular carcinoma after single-session percutaneous radiofrequency ablation with a single electrode insertion. *Mol Med Rep*, 2, 89-95.
- Shu, T., Ding, L., Fang, Z., Yu, S., Chen, L., Moser, M. a. J., Zhang, W., Qin, Z. & Zhang, B. 2022. Lethal Electric Field Thresholds for Cerebral Cells with Irreversible Electroporation and H-FIRE Protocols: An *In vitro* Three-Dimensional Cell Model Study. *J Biomech Eng*, 144.
- Sica, A. & Mantovani, A. 2012. Macrophage plasticity and polarization: *in vivo* veritas. *J Clin Invest*, 122, 787-95.
- Siddiqui, I. A., Latouche, E. L., Dewitt, M. R., Swet, J. H., Kirks, R. C., Baker, E. H., Iannitti, D. A., Vrochides, D., Davalos, R. V. & McKillop, I. H. 2016. Induction of rapid, reproducible hepatic ablations using next-generation, high frequency irreversible electroporation (H-FIRE) *in vivo*. *HPB*, 18, 726-34.
- Singh, D. K., Kumar, N., Rustagi, A., Jalan, D., Krishna, L. G. & Sharma, A. 2022. Percutaneous CT-guided radiofrequency ablation of osteoid osteoma: Potential Pitfalls and complications and how to avoid them. *J Clin Orthop Trauma*, 28, 101869.
- Singh, S. & Melnik, R. 2020. Thermal ablation of biological tissues in disease treatment: A review of computational models and future directions. *Electromagn Biol Med*, 39, 49-88.
- Slovak, R., Ludwig, J. M., Gettinger, S. N., Herbst, R. S. & Kim, H. S. 2017. Immuno-thermal ablations - boosting the anticancer immune response. *J Immunother Cancer*, 5, 78.
- Solari, F. P., Case, J. B., Vilaplana Grosso, F. R., Bertran, J., Fox-Alvarez, S. & Cabrera, R. 2024. Laparoscopic ultrasound-guided microwave ablation of hepatocellular carcinoma in a dog. *Vet Surg*, 53, 1495-503.
- Solbiati, L., Livraghi, T., Goldberg, S. N., Ierace, T., Meloni, F., Dellanoce, M., Cova, L., Halpern, E. F. & Gazelle, G. S. 2001. Percutaneous radio-frequency ablation of hepatic metastases from colorectal cancer: long-term results in 117 patients. *Radiology*, 221, 159-66.
- Somu, P., Mohanty, S., Basavegowda, N., Yadav, A. K., Paul, S. & Baek, K. H. 2024. The Interplay between Heat Shock Proteins and Cancer Pathogenesis: A Novel Strategy for Cancer Therapeutics. *Cancers*, 16.
- Song, X., Li, N., Liu, Y., Wang, Z., Wang, T., Tan, S., Li, C., Qiu, C., Gao, L., Asano, K., Tanaka, M., Liang, X., Liu, X. & Ma, C. 2022. CD169-positive macrophages enhance abscopal effect of radiofrequency ablation therapy in liver cancer. *Transl Oncol*, 15, 101306.

- Spugnini, E. P. & Baldi, A. 2014. Electrochemotherapy in veterinary oncology: from rescue to first line therapy. *Methods Mol Biol*, 1121, 247-56.
- Spugnini, E. P. & Baldi, A. 2019. Electrochemotherapy in Veterinary Oncology: State-of-the-Art and Perspectives. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 49, 967-79.
- Spugnini, E. P., Menditti, D., De Luca, A. & Baldi, A. 2022. Electrochemotherapy in Translational Medicine: From Veterinary Experience to Human Oncology. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 33, 79-90.
- Spugnini, E. P., Pizzuto, M., Filipponi, M., Romani, L., Vincenzi, B., Menicagli, F., Lanza, A., De Girolamo, R., Lomonaco, R., Fanciulli, M., Spriano, G. & Baldi, A. 2015. Electroporation Enhances Bleomycin Efficacy in Cats with Periocular Carcinoma and Advanced Squamous Cell Carcinoma of the Head. *J Vet Intern Med*, 29, 1368-75.
- Spugnini, E. P., Renaud, S. M., Buglioni, S., Carocci, F., Dragonetti, E., Murace, R., Cardelli, P., Vincenzi, B., Baldi, A. & Citro, G. 2011. Electrochemotherapy with cisplatin enhances local control after surgical ablation of fibrosarcoma in cats: an approach to improve the therapeutic index of highly toxic chemotherapy drugs. *J Transl Med*, 9, 152.
- Stippel, D. L., Brochhagen, H. G., Arenja, M., Hunkemoller, J., Holscher, A. H. & Beckurts, K. T. 2004. Variability of size and shape of necrosis induced by radiofrequency ablation in human livers: a volumetric evaluation. *Ann Surg Oncol*, 11, 420-5.
- Strand, N. H., Hagedorn, J. M., Dunn, T., Johnson, B., Abd-Elsayed, A., Covington, S., Freeman, J., Dawodu, A. & Maloney, J. 2024. Advances in radiofrequency ablation: mechanism of action and technology. *Ann Palliat Med*, 13, 1028-34.
- Taheri, A., Mansoori, P., Sandoval, L. F., Feldman, S. R., Pearce, D. & Williford, P. M. 2014. Electrosurgery: part II. Technology, applications, and safety of electrosurgical devices. *J Am Acad Dermatol*, 70, 607 e1-12.
- Takeuchi, O. & Akira, S. 2010. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 140, 805-20.
- Thamtorawat, S., Patanawanitkul, R., Rojwatcharapibarn, S., Chaiyasoot, W., Tongdee, T., Yodying, J. & Sorotpinya, S. 2022. Biliary complications and efficacy after ablation of peribiliary tumors using irreversible electroporation (IRE) or radiofrequency ablation (RFA). *Int J Hyperthermia*, 39, 751-7.
- Thiagalingam, A., Pouliopoulos, J., Barry, M. A., Salisbury, E., Pathmanathan, N., Boyd, A., Ross, D. L. & Kovoov, P. 2005. A thermochromic dispersive electrode can measure the underlying skin temperature and prevent burns during radiofrequency ablation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 16, 781-8.

- Thomson, K. R., Cheung, W., Ellis, S. J., Federman, D., Kavnoudias, H., Loader-Oliver, D., Roberts, S., Evans, P., Ball, C. & Haydon, A. 2011. Investigation of the safety of irreversible electroporation in humans. *J Vasc Interv Radiol*, 22, 611-21.
- Topalian, S. L., Taube, J. M., Anders, R. A. & Pardoll, D. M. 2016. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 16, 275-87.
- Tracy, C. R., Kabbani, W. & Cadeddu, J. A. 2011. Irreversible electroporation (IRE): a novel method for renal tissue ablation. *BJU Int*, 107, 1982-7.
- Trifonidou, M. A., Kirpensteijn, J. & Robben, J. H. 1998. A retrospective evaluation of 51 dogs with insulinoma. *Vet Q*, 20 Suppl 1, S114-5.
- Trombetta, E. S. & Mellman, I. 2005. Cell biology of antigen processing *in vitro* and *in vivo*. *Annu Rev Immunol*, 23, 975-1028.
- Trujillo, M. & Berjano, E. 2013. Review of the mathematical functions used to model the temperature dependence of electrical and thermal conductivities of biological tissue in radiofrequency ablation. *Int J Hyperthermia*, 29, 590-7.
- Trujillo, M., Najafabadi, M. E., Romero, A., Prakash, P. & Cornelis, F. H. 2024. Impact of Power and Time in Hepatic Microwave Ablation: Effect of Different Energy Delivery Schemes. *Sensors*, 24.
- Trujillo, M., Prakash, P., Faridi, P., Radosevic, A., Curto, S., Burdio, F. & Berjano, E. 2020. How large is the periablational zone after radiofrequency and microwave ablation? Computer-based comparative study of two currently used clinical devices. *Int J Hyperthermia*, 37, 1131-8.
- Tual, A., Revel, M. P., Canniff, E., Garin, A. & Chassagnon, G. 2022. Risk of pleural and diaphragmatic complications following percutaneous radiofrequency ablation of basal lung nodules. *Diagn Interv Imaging*, 103, 324-6.
- Tuszynski, J. A. & Costa, F. 2022. Low-energy amplitude-modulated radiofrequency electromagnetic fields as a systemic treatment for cancer: Review and proposed mechanisms of action. *Front Med Technol*, 4, 869155.
- Van Der Zee, J. 2002. Heating the patient: a promising approach? *Ann Oncol*, 13, 1173-84.
- Vanagas, T., Gulbinas, A., Pundzius, J. & Barauskas, G. 2010. Radiofrequency ablation of liver tumors (I): biological background. *Medicina*, 46, 13-7.
- Velez, E., Goldberg, S. N., Kumar, G., Wang, Y., Gourevitch, S., Sosna, J., Moon, T., Brace, C. L. & Ahmed, M. 2016. Hepatic Thermal Ablation: Effect of Device and Heating Parameters on Local Tissue Reactions and Distant Tumor Growth. *Radiology*, 281, 782-92.
- Venereau, E., Ceriotti, C. & Bianchi, M. E. 2015. DAMPs from Cell Death to New Life. *Front Immunol*, 6, 422.

- Vitulli, F., Spennato, P., Di Costanzo, M., Cinalli, M. A., Onorini, N., Mirone, G. & Cinalli, G. 2023. Hemostasis in a giant intraventricular tumor using a saline-cooled radiofrequency bipolar coagulator: technical note. *Childs Nerv Syst*, 39, 2181-5.
- Waitz, R., Solomon, S. B., Petre, E. N., Trumble, A. E., Fasso, M., Norton, L. & Allison, J. P. 2012. Potent induction of tumor immunity by combining tumor cryoablation with anti-CTLA-4 therapy. *Cancer Res*, 72, 430-9.
- Wakui, N., Iida, K., Takayama, R., Shiozawa, K., Takahashi, M., Ikehara, T., Nagai, H., Watanabe, M., Ishii, K. & Sumino, Y. 2009. Cool-tip 10-mm electrode useful for radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 56, 1585-91.
- Walsh, N., Jones, A. J., Gable, J. K., Mentzer, C. J., Bishop, J. L. & Kruse, E. J. 2018. Early Results of Irreversible Electroporation (IRE) for Tumor Ablation in Soft Tissue Tumors. *Am Surg*, 84, e445-e447.
- Wang, C., Wang, Q., Zhang, D., He, Z. & Chen, W. 2018. Perfused hypertonic-saline-augmented needle enlarges ablation zones in *ex vivo* porcine livers. *Oncol Lett*, 15, 972-8.
- Wang, H., Zou, J., Zhao, S. & Zhang, A. 2024. Optimization of three-dimensional esophageal tumor ablation by simultaneous functioning of multiple electrodes. *Med Biol Eng Comput*.
- Wang, K., Yu, B. & Pathak, J. L. 2021. An update in clinical utilization of photodynamic therapy for lung cancer. *J Cancer*, 12, 1154-60.
- Weber, J. S., Dummer, R., De Pril, V., Lebbe, C., Hodi, F. S. & Investigators, M. D. X. 2013. Patterns of onset and resolution of immune-related adverse events of special interest with ipilimumab: detailed safety analysis from a phase 3 trial in patients with advanced melanoma. *Cancer*, 119, 1675-82.
- Werner, S. & Grose, R. 2003. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*, 83, 835-70.
- Wheeler, C. A., Blanchard, G. L. & Davidson, H. 1989. Cryosurgery for treatment of recurrent proliferative keratoconjunctivitis in five dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 195, 354-7.
- Wood, B. J., Abraham, J., Hvizda, J. L., Alexander, H. R. & Fojo, T. 2003. Radiofrequency ablation of adrenal tumors and adrenocortical carcinoma metastases. *Cancer*, 97, 554-60.
- Wood, B. J., Kruecker, J., Abi-Jaoudeh, N., Locklin, J. K., Levy, E., Xu, S., Solbiati, L., Kapoor, A., Amalou, H. & Venkatesan, A. M. 2010. Navigation systems for ablation. *J Vasc Interv Radiol*, 21, S257-63.
- Wood, B. J., Locklin, J. K., Viswanathan, A., Kruecker, J., Haemmerich, D., Cebal, J., Sofer, A., Cheng, R., McCreedy, E., Cleary, K., McAuliffe, M. J., Glossop, N. & Yanof, J. 2007.

- Technologies for guidance of radiofrequency ablation in the multimodality interventional suite of the future. *J Vasc Interv Radiol*, 18, 9-24.
- Wood, T. F., Rose, D. M., Chung, M., Allegra, D. P., Foshag, L. J. & Bilchik, A. J. 2000. Radiofrequency ablation of 231 unresectable hepatic tumors: indications, limitations, and complications. *Ann Surg Oncol*, 7, 593-600.
- Wouters, E. G., Buishand, F. O., Kik, M. & Kirpensteijn, J. 2011. Use of a bipolar vessel-sealing device in resection of canine insulinoma. *J Small Anim Pract*, 52, 139-45.
- Wu, Y., Tang, Z., Fang, H., Gao, S., Chen, J., Wang, Y. & Yan, H. 2006. High operative risk of cool-tip radiofrequency ablation for unresectable pancreatic head cancer. *J Surg Oncol*, 94, 392-5.
- Wynn, T. A. & Vannella, K. M. 2016. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis. *Immunity*, 44, 450-62.
- Xing, R., Ji, S., Li, X., Gong, T. & Jiang, Q. 2024. High-frequency irreversible electroporation ablation for the prostate in Beagle dogs. *Transl Androl Urol*, 13, 2016-26.
- Yan, L., Ren, Y., Qian, K., Kan, X., Zhang, H., Chen, L., Liang, B. & Zheng, C. 2021. Sequential transarterial chemoembolization and early radiofrequency ablation improves clinical outcomes for early-intermediate hepatocellular carcinoma in a 10-year single-center comparative study. *BMC Gastroenterol*, 21, 182.
- Yang, T., Case, J. B., Boston, S., Dark, M. J. & Toskich, B. 2017. Microwave ablation for treatment of hepatic neoplasia in five dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 250, 79-85.
- Yoon, S., Kwak, J., Im, D. & Yoon, H. 2023. Review of outcomes of using lower ethanol concentration (83%) in percutaneous ultrasound-guided renal cyst sclerotherapy in dogs. *J Vet Sci*, 24, e61.
- Yu, J., Liang, P., Yu, X., Liu, F., Chen, L. & Wang, Y. 2011. A comparison of microwave ablation and bipolar radiofrequency ablation both with an internally cooled probe: results in *ex vivo* and *in vivo* porcine livers. *Eur J Radiol*, 79, 124-30.
- Zerbini, A., Pilli, M., Penna, A., Pelosi, G., Schianchi, C., Molinari, A., Schivazappa, S., Zibera, C., Fagnoni, F. F., Ferrari, C. & Missale, G. 2006. Radiofrequency thermal ablation of hepatocellular carcinoma liver nodules can activate and enhance tumor-specific T-cell responses. *Cancer Res*, 66, 1139-46.
- Zhang, B., Moser, M. A., Zhang, E. M., Luo, Y., Liu, C. & Zhang, W. 2016. A review of radiofrequency ablation: Large target tissue necrosis and mathematical modelling. *Phys Med*, 32, 961-71.
- Zhang, C., Wang, M., Li, Y. & Yan, Y. 2024. Histological examination of skin tissue in the porcine animal model after application of a new monopolar radiofrequency. *Lasers Surg Med*, 56, 298-304.

- Zhang, L., Tan, S., Huang, S., Zhong, C., Lü, M., Peng, Y. & Tang, X. 2020. The safety and efficacy of endoscopic ultrasound-guided ablation therapy for solid pancreatic tumors: a systematic review. *Scand J Gastroenterol*, 55, 1121-31.
- Zhang, L. & Wang, Z. B. 2010. High-intensity focused ultrasound tumor ablation: review of ten years of clinical experience. *Front Med China*, 4, 294-302.
- Zhang, N. & Bevan, M. J. 2011. CD8(+) T cells: foot soldiers of the immune system. *Immunity*, 35, 161-8.
- Zhang, W., Wang, W., Chai, W., Luo, X., Li, J., Shi, J., Bi, L. & Niu, L. 2017. Breast tissue ablation with irreversible electroporation in rabbits: A safety and feasibility study. *PLoS One*, 12, e0181555.
- Zhitny, V. P., Jannoud, R., Young, J. P., Dixon, B., Bungart, B., Phillips, L., Sutin, K., Bernstein, J. & Issa, M. 2024. Radiofrequency Ablation: Honoring the Pioneers of Modern Therapeutic Innovations. *Cureus*, 16, e72831.
- Zhou, Y., Han, X., Ren, F., Li, Q., Chen, X., Chu, D., Wu, R. & Lyu, Y. 2020. [Research Progress of Catheter-based Irreversible Electroporation for Tissue Ablation]. *Zhongguo Yi Liao Qi Xie Za Zhi*, 44, 172-8.
- Zhou, Y. F. 2011. High intensity focused ultrasound in clinical tumor ablation. *World J Clin Oncol*, 2, 8-27.
- Zhu, J., Yamane, H. & Paul, W. E. 2010. Differentiation of effector CD4 T cell populations. *Annu Rev Immunol*, 28, 445-89.
- Zorbas, G. & Samaras, T. 2015. A study of the sink effect by blood vessels in radiofrequency ablation. *Comput Biol Med*, 57, 182-6.
- Zuo, C. J., Wang, P. J., Shao, C. W., Wang, M. J., Tian, J. M., Xiao, Y., Ren, F. Y., Hao, X. Y. & Yuan, M. 2004. CT-guided percutaneous ethanol injection with disposable curved needle for treatment of malignant liver neoplasms and their metastases in retroperitoneal lymph nodes. *World J Gastroenterol*, 10, 58-61.
- Zvara, P., Karpman, E., Stoppacher, R., Esenler, A. C. & Plante, M. K. 1999. Ablation of canine prostate using transurethral intraprostatic absolute ethanol injection. *Urology*, 54, 411-5.

8. Apéndices

Tal y como indica la Escuela de Doctorado de la Universidad de Zaragoza en relación con la presentación de Tesis Doctorales por compendio de publicaciones se incluyen los siguientes apéndices donde se indica en primer lugar el factor de impacto de las revistas y las áreas temáticas correspondientes a las publicaciones que se recogen en la tesis; y en segundo lugar la justificación de la contribución de la doctoranda si se trata de un trabajo realizado en coautoría.

8.1. Factor de impacto y áreas temáticas

- 1) **Alfárez MD**, Corda A, de Blas I, Gago L, Fernandes T, Rodríguez-Piza I, Balañá B, Pentcheva P, Caruncho J, Barbero-Fernández A, Llinás J, Rivas D, Escudero A, Gómez-Ochoa P. *Computed Tomography-Guided Radiofrequency Ablation of Nasal Carcinomas in Dogs*. **Animals**, 2024;14(24):3682. doi: 10.3390/ani14243682.

Área temática: Veterinary Sciences

Factor de impacto WoS-JCR (2023): 2,700 - Q1 (16/167)

- 2) **Alfárez MD**, Corda A, de Blas I, Gago L, Fernandes T, Rodríguez-Piza I, Balañá B, Corda F, Gómez Ochoa P. *Percutaneous Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation as a Therapeutic Approach for the Management of Insulinomas and Associated Metastases in Dogs*. **Animals**, 2024;14(22):3301. doi: 10.3390/ani14223301.

Área temática: Veterinary Sciences

Factor de impacto WoS-JCR (2023): 2,700 - Q1 (16/167)

- 3) Gómez Ochoa P, **Alfárez MD**, de Blas I, Fernandes T, Sánchez Salguero X, Balañá B, Meléndez Lazo A, Barbero Fernandez A, Caivano D, Corda F, Corda A. *Ultrasound-Guided Radiofrequency Ablation of Chemodectomas in Five Dogs*. **Animals**, 2021;11(10):2790. doi: 10.3390/ani11102790.

Área temática: Veterinary Sciences

Factor de impacto WoS-JCR: 3,231 - Q1 (16/145)

- 4) Gómez Ochoa P, Barbero Fernández A, **Alfárez Reyes MD**, Zoco Herrero G, Sanmartin Arroita U, Melendez Lazo A. *Ablación por radiofrecuencia percutánea en un feocromocitoma adrenal con invasión de la vena cava caudal*. **Axon Vet - Novedades en Veterinaria**. 2022:1-5. URL: <https://axoncomunicacion.net/ablacion-por-radiofrecuencia-percutanea-en-un-feocromocitoma-adrenal-con-invasion-de-la-vena-cava-caudal/>

Área temática: Divulgación veterinaria.

Factor de impacto: Revista no indexada

8.2. Contribución de la doctoranda

La contribución de la doctoranda a los trabajos que conforman esta tesis doctoral se ha desarrollado en todas las fases del proceso investigador. En el ámbito metodológico, he participado activamente en la conceptualización y diseño de los estudios, desarrollando los protocolos de intervención y estableciendo los algoritmos técnicos necesarios para la estandarización del procedimiento ablativo. Esta labor ha incluido la definición de parámetros operativos específicos y el establecimiento de criterios objetivos de evaluación.

En el plano clínico-asistencial, he sido responsable de la identificación y selección de pacientes candidatos al procedimiento, realizando la valoración pre-intervención y la planificación terapéutica individualizada. Como operadora principal, he ejecutado los procedimientos de ablación por radiofrecuencia, implementando los protocolos de monitorización intraprocedimental y posteriores a la radiofrecuencia. Mi implicación directa en el seguimiento clínico ha permitido la documentación sistemática de la evolución de los pacientes y la detección precoz de potenciales complicaciones.

En el aspecto científico-académico, he dirigido la recopilación y análisis de datos, desarrollando una base de datos estructurada para la evaluación sistemática de resultados. He participado activamente en la redacción de los manuscritos originales, contribuyendo sustancialmente a la interpretación de resultados y a la elaboración de conclusiones, figurando como primera autora en dos de los artículos publicados en revistas indexadas.