

Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Κατάλυση όγκων στην κτηνιατρική ογκολογία

Review

Tumor ablation in veterinary oncology

Murphy K.R. Biomedical and Veterinary Sciences, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA, USA | **Hay A.N.** Department of Small Animal Clinical Sciences, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA, USA | **Rossmesl Jr. J.H.** Department of Small Animal Clinical Sciences, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA, USA | **Klahn S.** Department of Small Animal Clinical Sciences, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA, USA | **Vlaisavljevich E.** Department of Biomedical Engineering and Mechanics, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA | **Tuohy J.** Department of Small Animal Clinical Sciences, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA, USA | **Davalos R.V.** Department of Biomedical Engineering and Mechanics, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA / Department of Mechanical Engineering, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, USA / Virginia Tech-Wake Forest University, School of Biomedical Engineering and Sciences, Blacksburg, VA, USA | **Coutermarsh-Ott S.** Department of Biomedical Sciences and Pathobiology, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA, USA | **Dervisic N.G.** Department of Small Animal Clinical Sciences, Virginia-Maryland College of Veterinary Medicine, Blacksburg, VA, USA / Department of Internal Medicine, Virginia Tech Carilion School of Medicine, Roanoke, VA, USA

Περίληψη

Ο καρκίνος στα ζώα συντροφιάς παραμένει ο μεγαλύτερος παράγοντας θνησιμότητας, με τα περιστατικά καρκίνου να αυξάνονται, καθώς η μακροζωία των ζώων συντροφιάς συνεχίζει να βελτιώνεται. Η χημειοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία και η χειρουργική επέμβαση είναι οι κύριες μέθοδοι θεραπείας του καρκίνου στην κτηνιατρική, αλλά οι θεραπείες αυτές έχουν σημαντικούς περιορισμούς. Ως αποτέλεσμα των περιορισμών των σημερινών θεραπευτικών μεθόδων, δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στην ανάπτυξη ελάχιστα επεμβατικών θεραπευτικών μεθόδων για τη θεραπεία των καρκίνων των ζώων συντροφιάς, προκειμένου να περιοριστεί η νοσηρότητα, να βελτιωθεί ο έλεγχος του όγκου και να προληφθούν οι μεταστάσεις. Ειδικότερα, η ενεργειακή κατάλυση του όγκου αποτελεί ελκυστικό μέσο για την ελάχιστα επεμβατική εξάλειψη του καρκινικού ιστού, τόσο μέσω θερμικών όσο και μη θερμικών μηχανισμών. Στο παρόν άρθρο, διερευνούμε τις αρχές, τη μεθοδολογία και τις εφαρμογές διαφόρων θερμικών και μη θερμικών θεραπευτικών μεθόδων κατάλυσης του καρκίνου σε ζώα συντροφιάς. Συγκεκριμένα, εξετάζουμε τους θερμικούς τρόπους κατάλυσης, συμπεριλαμβανομένων της κρυοπηξίας, του εστιασμένου υπερήχου υψηλής έντασης (HIFU), της κατάλυσης με λέιζερ, της κατάλυσης με μικροκύματα και της κατάλυσης με ραδιοσυχνότητες, καθώς και τους μη θερμικούς τρόπους κατάλυσης, συμπεριλαμβανομένων της ιστοθρίψιας, της μη αναστρέψιμης ηλεκτροδιά-

Abstract

Cancer in companion animals remains the largest contributor to mortality, with cancer incidence increasing as companion animal longevity continues to improve. Chemotherapy, radiotherapy, and surgery are the main treatment modalities for cancer in veterinary medicine, but these therapies harbor significant limitations. As a result of the limitations of current treatment modalities, significant attention is being paid to the development of minimally-invasive therapeutics for the treatment of companion animal cancers in order to limit morbidity, improve tumor control, and prevent metastasis. In particular, energy-based tumor ablation represents an attractive means of minimally-invasively eradicating tumor tissue, via both thermal and nonthermal mechanisms. Herein, we explore the principles, methodology, and applications of various thermal and nonthermal ablation therapeutics in the treatment of cancer in companion animals. Specifically, we review thermal ablation modalities including cryoablation, high-intensity focused ultrasound (HIFU), laser ablation, microwave ablation, and radiofrequency ablation, as well as nonthermal ablation modalities including histotripsy, irreversible electroporation (IRE), and high-frequency irreversible electroporation (H-FIRE), and evaluate the clinical applications of each in small animal oncology.

τρησης (IRE) και της μη αναστρέψιμης ηλεκτροδιάτρησης υψηλής συχνότητας (H-FIRE), και αξιολογούμε τις κλινικές εφαρμογές του καθενός στην ογκολογία μικρών ζώων.

Λέξεις ευρετηρίου: γάτα, ελάχιστα επεμβατικές μέθοδοι, καρκίνος, σκύλος

MeSH keywords: cat, dog, minimally invasive methods, tumor

Εισαγωγή

Ο καρκίνος αποτελεί τον μεγαλύτερο παράγοντα θνησιμότητας στους σκύλους συντροφιάς, και εν μέρει λόγω της αυξημένης μακροζωίας των ζώων συντροφιάς, η συχνότητα εμφάνισης νεοπλασίας στα ζώα συντροφιάς συνεχίζει να αυξάνεται (Vascellari et al. 2009). Οι βασικοί άξονες της θεραπείας του καρκίνου στα ζώα συντροφιάς περιλαμβάνουν την χειρουργική επέμβαση, την χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Ωστόσο, η χειρουργική εκτομή συχνά αποκλείεται λόγω του αυξημένου κινδύνου νοσηρότητας και των πιθανών επιπλοκών της ανάρρωσης. Ενώ η χημειοθεραπεία και η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιούνται συχνά σε μια προσπάθεια να αποτραπούν οι μεταστάσεις, να αντιμετωπιστούν τα κλινικά συμπτώματα και να ξεπεραστούν οι περιορισμοί της χειρουργικής περίθαλψης, οι μεταστάσεις των πρωτοπαθών όγκων παραμένουν μια σημαντική αιτία θανάτου στους κτηνιατρικούς ασθενείς. Κατά συνέπεια, απαιτούνται επείγοντως βελτιωμένες στρατηγικές θεραπείας του καρκίνου για τη βελτίωση της διαχείρισης της νεοπλασματικής νόσου στην κτηνιατρική.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αποδίδεται στην ανάπτυξη ελάχιστα επεμβατικών θεραπευτικών μεθόδων σε μια προσπάθεια να περιοριστεί η νοσηρότητα και ταυτόχρονα να μεγιστοποιηθεί ο έλεγχος του όγκου και να αποφευχθούν οι μεταστάσεις σε ασθενή από καρκίνο ζώα συντροφιάς. Συγκεκριμένα, η ενεργειακή κατάλυση του όγκου αναδεικνύεται ως μια ρεαλιστική, αποτελεσματική και δυνητικά οικονομικά αποδοτική παρέμβαση για τον καρκίνο στα ζώα συντροφιάς.

Τι είναι η κατάλυση όγκων με βάση την ενέργεια;

Οι θεραπείες αφαίρεσης όγκων με βάση την ενέργεια περιλαμβάνουν την εστιακή εφαρμογή ενέργειας για την καταστροφή των όγκων, με στόχο την εξάλειψη όλων των νεοπλασματικών κυττάρων.

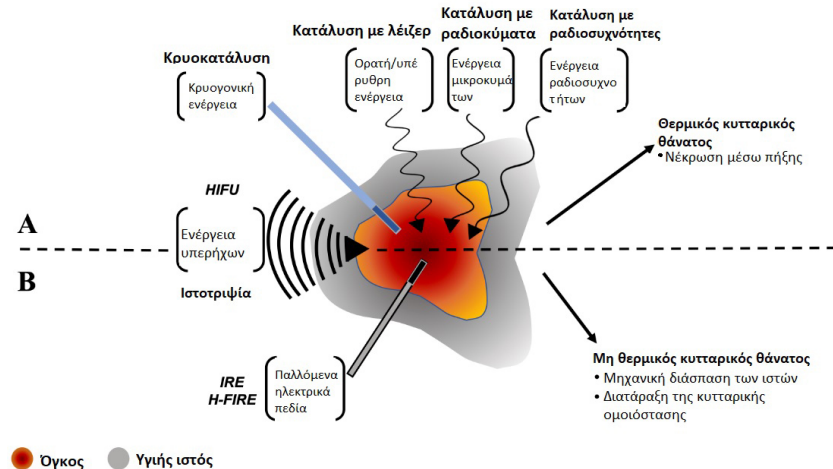
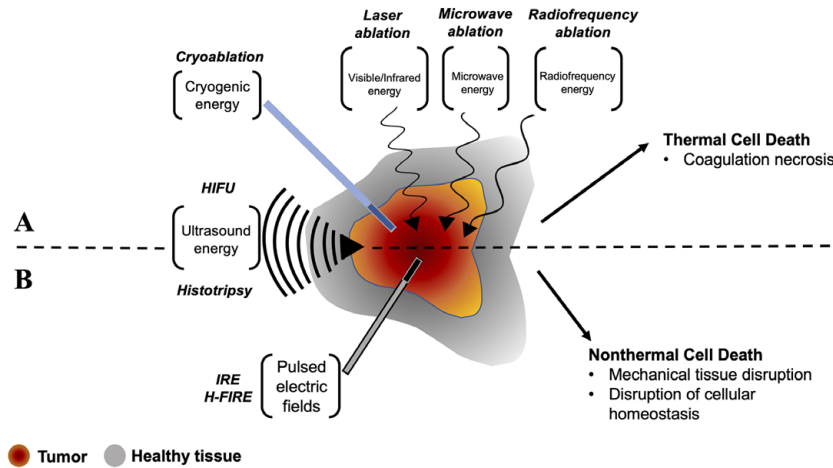
Introduction

Cancer represents the largest mortality factor in companion dogs, and partially due to increased longevity of companion animals, the incidence of neoplasia in companion animals continues to rise (Vascellari et al. 2009). The mainstays of cancer therapy in companion animals include surgery, chemotherapy, and radiotherapy. However, surgical resection is frequently precluded due to increased risk for morbidity and potential recovery complications. While chemotherapy and radiotherapy are often employed in an effort to inhibit metastasis, manage clinical symptoms, and overcome surgical care limitations, metastasis of primary tumors remains a major cause of death in veterinary patients. Subsequently, improved cancer therapeutic strategies are urgently needed to improve neoplastic disease management in veterinary medicine.

Special interest is being paid toward the development of minimally-invasive therapeutics in an effort to limit morbidity while maximizing tumor control and preventing metastasis in companion animal cancer patients. Specifically, energy-based tumor ablation is emerging as a realistic, efficacious, and potentially cost-effective intervention for cancer in companion animals.

What is Energy-Based Tumor Ablation?

Energy-based tumor ablation therapeutics involve the focal application of energy to destroy tumors, with the goal of eradicating all neoplastic cells within a specified target volume while sparing surrounding healthy tissues. These ablation modalities are administered non- or minimally-invasively, under image-guidance, and can be used as sole treatment modalities, or as adjuvants to surgery, chemotherapy, and radiotherapy. Depending on the ablation modality employed, treatment may induce thermal (Figure



Σχήμα 1. Σύνοψη Α) των θερμικών και Β) των μη θερμικών μεθόδων κατάλυσης με βάση την ενέργεια. Α) Η θερμική κατάλυση του καρκινικού ιστού μπορεί να επιτευχθεί μέσω υποθερμικών μηχανισμών με εφαρμογή κρυογονικής ενέργειας ή μέσω υπερθερμικών μηχανισμών με εφαρμογή εστιασμένων υπερήχων υψηλής έντασης (HIFU) ή διαφόρων συχνοτήτων ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας (κατάλυση με λέιζερ, κατάλυση με μικροκύματα, κατάλυση με ραδιοσυχνότητες). Β) Η μη-θερμική εκτομή του καρκινικού ιστού μπορεί να επιτευχθεί μέσω μηχανικής διάσπασης του ιστού με εφαρμογή μηχανικών εστιασμένων υπερήχων υψηλής έντασης (ισοτριψία), ή μέσω διαταραχής της κυτταρικής ομοιόστασης μετά από θεραπεία με παλμικά ηλεκτρικά πεδία κατά την μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση (IRE) και την μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση υψηλής συχνότητας (H-FIRE).

Figure 1. Summary of A) thermal and B) nonthermal energy-based ablation modalities. A) Thermal ablation of tumor tissue can be achieved via hypothermic mechanisms through application of cryogenic energy, or via hyperthermic mechanisms through application of high-intensity focused ultrasound (HIFU) or various frequencies of electromagnetic energy (laser ablation, microwave ablation, radiofrequency ablation). B) Nonthermal ablation of tumor tissue can be achieved through mechanical tissue disruption by application of high-intensity mechanical focused ultrasound (histotripsy), or via disruption of cellular homeostasis after treatment with pulsed electric fields in irreversible electroporation (IRE) and high-frequency irreversible electroporation (H-FIRE).

ρων εντός ενός καθορισμένου όγκου-στόχου, ενώ παράλληλα προστατεύονται οι γύρω υγιείς ιστοί. Αυτές οι μέθοδοι κατάλυσης εφαρμόζονται μη- ή ελάχιστα επεμβατικά, με απεικονιστική καθοδήγηση, και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μοναδικές μέθοδοι θεραπείας ή ως βοηθητικά μέσα

1A) or nonthermal (Figure 1B) tumor tissue destruction. Here, we explore the mechanisms, advantages and limitations, and most up-to-date applications of each of various modalities of thermal and nonthermal energy-based ablation of spontaneous tumors in veterinary medicine.

στην χειρουργική επέμβαση, την χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο κατάλυσης, η θεραπεία μπορεί να προκαλέσει θερμική (Εικόνα 1Α) ή μη θερμική (Εικόνα 1Β) καταστροφή του ιστού του όγκου. Εδώ, διερευνούμε τους μηχανισμούς, τα πλεονεκτήματα και τους περιορισμούς, καθώς και τις πιο σύγχρονες εφαρμογές καθεμιάς από τις διάφορες μεθόδους θερμικής και μη θερμικής ενεργειακής κατάλυσης όγκων στην κτηνιατρική.

Κατάλυση του όγκου μέσω θερμικής ενέργειας

Οι θερμικές μέθοδοι κατάλυσης όγκων μπορούν να έχουν κυτταροτοξική δράση μέσω υποθερμικών ή υπερθερμικών μηχανισμών για την πρόκληση νέκρωσης των ιστών. Οι μέθοδοι θερμικής κατάλυσης όγκων περιλαμβάνουν την κρυοπηξία, την κατάλυση με λέιζερ, την κατάλυση με μικροκύματα (MWA), την κατάλυση με ραδιοσυχνότητες (RFA) και την κατάλυση με υπερήχους υψηλής έντασης (HIFU).

Κρυοπηξία

Η κρυοπηξία χρησιμοποιεί υποθερμικούς μηχανισμούς για την πρόκληση ψυχρού τραυματισμού με σκοπό την κυτταροτοξικότητα. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, ένα υγροποιημένο κρυογόνο αέριο, πιο συχνά αργό, ψύχει έναν καθετήρα, προκαλώντας τη μεταφορά θερμότητας από τον ιστό στον κρυοκαθετήρα. Το ήλιο υψηλής πίεσης στον κρυοκαθετήρα χρησιμοποιείται στη συνέχεια για την επαναλαμβανόμενη ψύξη και απόψυξη του ιστού. (Hinshaw et al. 2014). Η θερμοκρασία που απαιτείται για να προκληθεί κρυοπηξία ιστών είναι -20 έως -40°C , και οι θερμοκρασίες αυτές πρέπει να εκτείνονται τουλάχιστον 1 cm πέρα από τα όρια του όγκου προκειμένου να εξαλειφθεί πλήρως ο όγκος. Η κρυοπηξία επιδρά στους ιστούς μέσω άμεσης κυτταρικής βλάβης μέσω σχηματισμού σφαιριδίων πάγου και πηκτικής νέκρωσης, ανοσοτροποποίησης, αγγειακής βλάβης και ισχαιμίας. (Erinjeri & Clark 2010).

Η κρυοπηξία επιτρέπει την εύκολη απεικόνιση της σφαίρας πάγου, που συσχετίζεται με τη ζώνη κατάλυσης, μέσω υπερήχων, αξονικής ή μαγνητικής τομογραφίας. Επιπλέον, η κρυοπηξία είναι λιγότερο επώδυνη λόγω των αναισθητικών επιδράσεων της ψύξης των νεύρων και των ιστών. Κάθε κρυοκαθετήρας μπορεί να ενεργεί ανεξάρτητα από άλλους κρυοκαθετήρες, επιτρέποντας πολύ ακριβή ρύθμιση της ζώνης κατάλυσης και πιο εξατομικευμένη θεραπεία. Τέλος, κατά τη διάρκεια της κρυοπηξίας, αν και παρατηρείται θρόμβωση μι-

Thermal Energy-Based Tumor Ablation

Thermal tumor ablation modalities can induce cytotoxic effects via hypo- or hyperthermic mechanisms to induce tissue necrosis. Thermal tumor ablation modalities include cryoablation, laser ablation, microwave ablation (MWA), radiofrequency ablation (RFA), and high-intensity focused ultrasound ablation (HIFU).

Cryoablation

Cryoablation utilizes hypothermal mechanisms to induce cold injury for cytotoxicity. During the procedure, a liquified gas cryogen, most often argon, cools a probe, causing heat to be transferred out of the tissue into the cryoprobe. High pressure helium in the cryoprobe is then used to repeatedly cool and thaw the tissue (Hinshaw et al. 2014). The temperature required to induce cryoablative tissue damage is -20 to -40°C , and these temperatures must extend at least 1 cm beyond the tumor margin in order to fully eliminate the tumor. Cryoablation impacts tissue via direct cell injury via ice ball formation and coagulative necrosis, immunomodulation, vascular injury, and ischemia (Erinjeri & Clark 2010).

Cryoablation allows for easy visualization of the ice ball, correlating with the ablation zone, via ultrasound, CT, or MRI. Additionally, cryoablation is less painful due to the anesthetic effects of cooling nerves and tissues. Each cryoprobe can act independently of other cryoprobes, allowing for very precise tuning of the ablation zone and more customizable treatment. Finally, during cryoablation, although small vessel thrombosis is observed, larger blood vessels are generally spared (Hinshaw et al. 2014). Despite its numerous advantages, cryoablation carries limitations that restrict its applicability in veterinary oncology. First, tumor lysis syndrome and the heat sink effect are possible side effects that may complicate treatment, as well as a possibility of systemic cryoshock (Hinshaw et al. 2014). Additionally, although cryoablation spares large blood vessels, due to the lack of large vessel thrombosis and coagulation, hemorrhagic complications are a concern after cryoablation (Erinjeri & Clark 2010). Treatment can also be limited by cooling efficiency, which is limited to the small surface area around the cryoprobe (Hinshaw et al. 2014). Finally, a particularly notable risk of cryoablation is organ fracture, which can occur

κρών αγγείων, τα μεγαλύτερα αιμοφόρα αγγεία γενικά προφυλάσσονται (Hinshaw et al. 2014). Παρά τα πολυάριθμα πλεονεκτήματά της, η κρυοπηξία φέρει περιορισμούς που δεσμεύουν την εφαρμογή της στην κτηνιατρική ογκολογία. Πρώτον, το σύνδρομο λύσης του όγκου και το φαινόμενο της απορροής θερμότητας είναι πιθανές παρενέργειες που μπορεί να περιπλέξουν τη θεραπεία, καθώς και η πιθανότητα συστηματικού κρουσοκ. (Hinshaw et al. 2014). Επιπλέον, παρόλο που η κρυοπηξία προφυλάσσει τα μεγάλα αιμοφόρα αγγεία, λόγω της έλλειψης θρόμβωσης και πήξης των μεγάλων αγγείων, οι αιμορραγικές επιπλοκές αποτελούν έναν προβληματισμό μετά την κρυοπηξία. (Erinjeri & Clark 2010). Η θεραπεία μπορεί επίσης να περιοριστεί από την αποτελεσματικότητα της ψύξης, η οποία περιορίζεται στη μικρή επιφάνεια γύρω από το κρουοκαθετήρα. (Hinshaw et al. 2014). Τέλος, ένας ιδιαίτερα αξιοσημείωτος κίνδυνος της κρυοπηξίας είναι η θραύση οργάνων, η οποία μπορεί να συμβεί σε εύθραυστους παγωμένους ιστούς σε περιπτώσεις υπερβολικής ροπής του κρουοκαθετήρα ή μετατόπισής του (Erinjeri & Clark 2010).

Η χρήση της κρυοπηξίας στην κτηνιατρική αναφέρεται κυρίως για δερματικούς και υποδόριους όγκους, με ποικίλους βαθμούς ασφάλειας και αποτελεσματικότητας. Σε μια αναδρομική μελέτη κρυοπηξίας για όγκους του δέρματος και του υποδόριου σε σκύλους, το 35% των οποίων ήταν κακοήθεις βλάβες, επιτεύχθηκε ολική κατάλυση στο 94,5% των βλαβών χωρίς υποτροπή ή μετάσταση (Ma et al. 2021).

Σε έναν σκύλο, αναφέρθηκε μακροχρόνιος έλεγχος υποτροπιάζοντος ρινικού αδενοκαρκινώματος μετά από καθοδηγούμενη με αξονική τομογραφία διαρρινική κρυοπηξία. Οι επιπλοκές που σχετιζόνταν με τη θεραπεία περιλάμβαναν εστιακή λύση του τετρημένου πετάλου του ηθμοειδούς οστού, η οποία αυτοεπιλύθηκε 13 μήνες μετά τη θεραπεία, και ήπιο χρόνιο ρινικό έκκριμα. Ο σκύλος υποβλήθηκε σε ευθανασία 21 μήνες μετά τη θεραπεία λόγω οξέος αιμοπεριτοναίου και κατά τη νεκροψία διαγνώστηκε μια ηπατική μάζα σύμφωνη με σάρκωμα. (Murphy et al. 2011). Σε έναν σκύλο με ινοσάρκωμα της άνω γνάθου, επιτεύχθηκε μερική ύφεση του όγκου μετά από κρυοπηξία, διααρτηριακό εμβολισμό και συστηματική χημειοθεραπεία. (Weisse et al. 2011). Σε μια μελέτη δέκα σκύλων με ρινικό ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα (SCC), αξιολογήθηκε ο συνδυασμός εκτομής με λέιζερ CO₂ και κρυοχειρουργικής για την ανακούφιση. Μετά την αφαίρεση με λέιζερ CO₂, πραγματοποιήθηκε κρυοπηξία στον ορατό όγκο, καθώς και σε παρακείμενους και υποπαρακείμενους ιστούς μέσω τριών κύκλων ταχείας κατάψυξης/αργής απόψυ-

in brittle frozen tissues in cases of excessive cryoprobe torque or cryoprobe displacement (Erinjeri & Clark 2010).

The use of cryoablation in veterinary medicine is most reported for skin and subcutaneous tumors, with varying degrees of safety and efficacy noted. In a retrospective study of cryoablation for skin and subcutaneous tumors in dogs, 35% of which were malignant lesions, total ablation was achieved in 94.5% of lesions without relapse or metastasis (Ma et al. 2021).

In one dog, long-term control of post-radiation recurrent nasal adenocarcinoma was reported after CT-guided transnasal cryoablation. Treatment-associated complications included focal lysis of the cribriform plate which self-resolved 13 months post-treatment, and mild chronic nasal discharge. The dog was euthanized 21 months post-treatment due to acute hemoperitoneum, and a sarcoma-consistent hepatic mass was diagnosed at necropsy (Murphy et al. 2011). In one dog with maxillary fibrosarcoma, partial tumor remission was achieved following cryoablation, transarterial embolization, and systemic chemotherapy (Weisse et al. 2011). In a study of ten client-owned dogs with nasal squamous cell carcinoma (SCC), combination CO₂ laser ablation and cryosurgery was evaluated for palliation. Following CO₂ laser ablation, cryoablation was performed on the visible tumor, as well as adjacent and subadjacent tissue via three rapid freeze/slow thaw cycles. Treatment resulted in an overall survival time of 260 days (Ierace et al. 2018). Tumor recurrence occurred in seven of the ten treated dogs 33-136 days after treatment. Dogs with tumor recurrence were re-treated with combined CO₂ laser ablation and cryoablation immediately following recurrence, with three dogs experiencing a second recurrence and one dog experiencing five recurrences. This study demonstrated acceptable palliation of canine nasal SCC, with improved air passage in all dogs and excellent aesthetic outcome (Ierace et al. 2018).

Laser ablation

Laser ablation, often referred to as laser interstitial thermal therapy (LITT), utilizes electromagnetic energy to induce coagulative necrosis via hyperthermic mechanisms. During LITT ablation, lasers deliver specific wavelengths of electromagnetic energy, typically in the near-infrared (IR) range, which is absorbed by tissue-specific

ξης. Η θεραπεία είχε ως αποτέλεσμα συνολικό χρόνο επιβίωσης 260 ημερών. (Ierace et al. 2018). Υποτροπή του όγκου εμφανίστηκε σε επτά από τους δέκα σκύλους που έλαβαν θεραπεία 33-136 ημέρες μετά τη θεραπεία. Οι σκύλοι με υποτροπή του όγκου υποβλήθηκαν εκ νέου σε θεραπεία με συνδυασμένη αφαίρεση με λέιζερ CO₂ και κρυοπηξία αμέσως μετά την υποτροπή, με τρεις σκύλους να εμφανίζουν δεύτερη υποτροπή και έναν σκύλο να εμφανίζει πέντε υποτροπές. Αυτή η μελέτη κατέδειξε αποδεκτή παρηγορητική αντιμετώπιση του ρινικού ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του σκύλου, με βελτιωμένη δίοδο αέρα σε όλους τους σκύλους και άριστο αισθητικό αποτέλεσμα (Ierace et al. 2018).

Κατάλυση με λέιζερ

Η κατάλυση με λέιζερ, που συχνά αναφέρεται ως διάμεση θερμοθεραπεία (laser interstitial thermal therapy) με λέιζερ (LITT), χρησιμοποιεί ηλεκτρομαγνητική ενέργεια για την πρόκληση πηκτικής νέκρωσης μέσω υπερθερμικών μηχανισμών. Κατά τη διάρκεια της κατάλυσης με LITT, τα λέιζερ παρέχουν συγκεκριμένα μήκη κύματος ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας, συνήθως στην περιοχή του εγγύς υπέρυθρου (IR), η οποία απορροφάται από χρωμοφόρα των κυττάρων συγκριμένων ιστών. Τα κύτταρα μετατρέπουν την απορροφούμενη ενέργεια σε θερμότητα, η οποία διαχέεται στους παρακείμενους ιστούς (Hinshaw et al. 2014).

Η LITT έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για την αφαίρεση όγκων στην κτηνιατρική ογκολογία για μεγάλη ποικιλία επιφανειακών και βαθύτερων όγκων, συμπεριλαμβανομένων διαφόρων καρκινωμάτων, σαρκωμάτων και αδενωμάτων, καθώς και όγκων του εγκεφάλου, του μαστικού ιστού και του προστάτη, με εξαιρετικά ποικίλα αποτελέσματα. Σε μια μελέτη με εγγύς υπέρυθρου LITT σε τριάντα οκτώ σκύλους με απόφραξη λόγω καρκινώματος του μεταβατικού επιθηλίου (TCC) της κατώτερης ουροφόρου οδού, παρόλο που η διάμεση επιβίωση ήταν 380 ημέρες, υπήρχαν σημαντικοί κίνδυνοι με τη διαδικασία, με επιπλοκές όπως στραγγουρία (δύο σκύλοι), στένωση στην κυστεοουρηθρική συμβολή (τρεις σκύλοι), σπορά του TCC στην κατώτερη ουροφόρο οδό και στο σημείο της ουρηθροστομίας (δύο σκύλοι) και διάτρηση της ουρήθρας (ένας σκύλος). (Cerf & Lindquist 2012).

Σε δύο ξεχωριστές μελέτες για τη χρήση της διαενδοσκοπικής LITT για τη θεραπεία της σχετιζόμενης με το *Spirocerca lupi* νεοπλασίας του οισοφάγου σε σκύλους (δύο και δεκαεπτά σκύλοι), η κατάλυση με LITT συσχετίστηκε με χαμηλότερη νοσηρότητα, συγκρίσιμη μακροπρόθεσμη επιβίωση και συντομότερες νοσηλείες σε σύγκριση με τη

chromophores in cells. The cells convert the absorbed energy into heat, which diffuses to adjacent tissues (Hinshaw et al. 2014).

LITT has been used extensively for tumor ablation in veterinary oncology for wide varieties of superficial and deep tumors, including various carcinomas, sarcomas, and adenomas, as well as tumors of the brain, mammary tissue, and prostate, with extremely variable outcomes. In one study of near-IR LITT for thirty-eight dogs with obstruction due to lower urinary track transitional cell carcinoma (TCC), although median survival was 380 days, there were significant risks with the procedure, with complications including stranguria (two dogs), stenosis at the cystourethral junction (three dogs), TCC seeding of the lower urinary tract and urethrostomy site (two dogs), and urethral penetration (one dog) (Cerf & Lindquist 2012).

In two separate studies of the use of transendoscopic LITT for the treatment of *Spirocerca lupi*-associated esophageal neoplasia in dogs (two and seventeen dogs), LITT ablation was associated with lower morbidity, comparable long-term survival, and shorter hospitalizations compared with surgical management (Yas et al. 2013, Shipov et al. 2015). Another study demonstrated successful endoscopic LITT ablation of a tracheal osteochondroma in a four-month-old golden retriever using a diode laser, with no notable post-treatment complications (Bottero et al. 2016). In these studies, LITT ablation appeared to be a safe and effective palliative treatment option for esophageal and tracheal tumors of various histopathologic subtypes.

LITT ablation has also been applied to superficial tumors in veterinary medicine for both ablation and excision of tumors. In a study of thirty-eight client-owned dogs with a total of forty skin tumors of various types, CO₂ lasers were used to compare excision, ablation, and combined excision and ablation laser techniques. Local tumor recurrence occurred in two cases. Healing times was less than twelve days in 88% of dogs treated with the combined excision and ablation protocol, with total procedure times of less than ten minutes (Paczuska et al. 2014). This study demonstrated the advantages of CO₂ laser treatment for ablation of superficial tumors, and its potential as an alternative to surgery for skin tumors, as it allows for non-contact excision, simplified procedures, and negligible damage to surrounding tissues (Paczuska et al. 2014).

χειρουργική αντιμετώπιση (Yas et al. 2013, Shipov et al. 2015). Μια άλλη μελέτη κατέδειξε την επιτυχή ενδοσκοπική κατάλυση LITT ενός οστεοχόνδρωματος της τραχείας σε ένα Golden Retriever ηλικίας τεσσάρων μηνών με χρήση διοδικού λέιζερ, χωρίς αξιοσημείωτες επιπλοκές μετά τη θεραπεία (Bottero et al. 2016). Σε αυτές τις μελέτες, η εκτομή LITT φάνηκε να αποτελεί ασφαλής και αποτελεσματική παρηγορητική θεραπευτική επιλογή για όγκους του οισοφάγου και της τραχείας διαφόρων ιστοπαθολογικών υποτύπων.

Η κατάλυση με LITT έχει επίσης εφαρμοστεί σε επιφανειακούς όγκους στην κτηνιατρική τόσο για την καταστροφή όσο και για την εκτομή των όγκων. Σε μια μελέτη τριάντα οκτώ σκύλων με συνολικά σαράντα δερματικούς όγκους διαφόρων τύπων, χρησιμοποιήθηκαν λέιζερ CO₂ για τη σύγκριση της εκτομής, της κατάλυσης και των συνδυασμένων τεχνικών λέιζερ εκτομής και κατάλυσης. Σε δύο περιπτώσεις σημειώθηκε τοπική υποτροπή του όγκου. Ο χρόνος επούλωσης ήταν μικρότερος από δώδεκα ημέρες στο 88% των σκύλων που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με το συνδυασμένο πρωτόκολλο εκτομής και κατάλυσης, με συνολικό χρόνο επέμβασης λιγότερο από δέκα λεπτά. (Paczuska et al. 2014). Αυτή η μελέτη κατέδειξε τα πλεονεκτήματα της θεραπείας με λέιζερ CO₂ για την κατάλυση επιφανειακών όγκων και τις δυνατότητές της ως εναλλακτικής λύσης στη χειρουργική επέμβαση για τους όγκους του δέρματος, καθώς επιτρέπει την εκτομή δίχως επαφή, τις απλουστευμένες διαδικασίες και την αμελητέα βλάβη στους περιβάλλοντες ιστούς. (Paczuska et al. 2014).

Ο συνδυασμός της LITT αφαίρεσης του όγκου και διαφόρων φωτοευαισθητοποιητών έχει διερευνηθεί σε διάφορες κτηνιατρικές ογκολογικές εφαρμογές. Μια μελέτη που αξιολόγησε την κυτταροτοξική επίδραση της ενδοογκικής έγχυσης ναυοράβδων χρυσού, πριν από την αφαίρεση με λέιζερ, όγκων του μαστού σε δέκα σκύλους και έξι γάτες, έδειξε πλήρη ύφεση στο 62,5% των ζώων, με 25% των ζώων να υποτροπιάζουν μετά την αρχική ανταπόκριση στη θεραπεία. Ειδικότερα, οι ναυοράβδοι χρυσού δεν είχαν τοξική επίδραση στο προφίλ του αίματος ή στη λειτουργία των νεφρών ή του ήπατος και η συνολική επιβίωση ήταν 315 ημέρες (Abdoon et al. 2016). Σε μια ξεχωριστή μελέτη, τρεις ενδοογκικές δόσεις ναυοράβδων χρυσού και χαμηλής δόσης LITT σε διαστήματα δύο εβδομάδων έδειξαν ότι οι όγκοι εκμηδενίστηκαν κυρίως μέσω απόπτωσης με μείωση του βαθμού κακοήθειας μετά από μία θεραπεία και πλήρη υποχώρηση μετά από τρεις. Οι μεταστάσεις απουσίαζαν στις ακτινογραφίες ένα έτος μετά τη θεραπεία (Ali et al. 2016).

The combination of LITT tumor ablation and various photosensitizers has been investigated in various veterinary oncologic applications. One study evaluating the cytotoxic effect of intratumoral injection of gold nanorods prior to laser ablation of mammary tumors in ten dogs and six cats showed complete remission in 62.5% of animals, with 25% of animals relapsing after initial treatment response. Notably, gold nanorods had no toxic effect on blood profile or function of the kidney or liver, and overall survival was 315 days (Abdoon et al. 2016). In a separate study, three doses of intratumoral gold nanorods and low-dose LITT at two-week intervals demonstrated that tumors were ablated mainly via apoptosis with a reduction in tumor grade after one treatment and complete regression after three. Metastasis was absent on radiographs one year post-treatment (Ali et al. 2016).

Microwave ablation

Microwave ablation (MWA) is a thermal ablation modality that involves the transmission of microwave electromagnetic energy through an antenna into tumor tissue. The microwave energy results in the orientation of water molecules within an electromagnetic field, which continuously realign when an oscillating microwave field is applied. The continuous realignment of the water molecules increases kinetic energy, raising the temperature of the tissue to cause coagulative necrosis of the tumor (Hinshaw et al. 2014). Similarly to other ablation modalities, MWA is performed under ultrasound or CT image guidance.

The use of MWA may be particularly advantageous for the ablation of high-impedance tumors of the lung and bone, because microwave energy penetrates biological tissues regardless of impedance to electrical current (Andreano & Brace 2013). Further, MWA rapidly achieves high temperatures to reduce treatment times, can create relatively large ablation zones with increased consistency across tissue types, and is relatively insensitive to heat sink effects of large peritumoral blood vessels (Andreano & Brace 2013)

Importantly, there are some limitations of MWA that may reduce its application in veterinary oncology. The necessity of cooling mechanisms in microwave antennas complicates treatment procedures. Additionally, there is a significant clinical learning curve due to the high temperatures

Κατάλυση με μικροκύματα

Η κατάλυση με μικροκύματα (MWA) είναι μια μέθοδος θερμικής εκτομής που περιλαμβάνει τη μετάδοση ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας μικροκυμάτων μέσω μιας κεραίας στον ιστό του όγκου. Η ενέργεια των μικροκυμάτων έχει ως αποτέλεσμα τον προσανατολισμό των μορίων του νερού εντός ενός ηλεκτρομαγνητικού πεδίου, τα οποία επαναπροσδιορίζονται συνεχώς όταν εφαρμόζεται ένα ταλαντευόμενο πεδίο μικροκυμάτων. Η συνεχής αναπροσαρμογή των μορίων νερού αυξάνει την κινητική τους ενέργεια, αυξάνοντας τη θερμοκρασία του ιστού ώστε να προκληθεί πηκτική νέκρωση του όγκου. (Hinshaw et al. 2014). Ομοίως με άλλες μεθόδους κατάλυσης, η MWA εκτελείται υπό καθοδήγηση με υπερήχους ή με αξονική τομογραφία.

Η χρήση της MWA μπορεί να είναι ιδιαίτερα πλεονεκτική για την αφαίρεση όγκων υψηλής ηλεκτρικής αντίστασης του πνεύμονα και των οστών, επειδή η ενέργεια μικροκυμάτων διεισδύει στους βιολογικούς ιστούς ανεξάρτητα από την αντίσταση στο ηλεκτρικό ρεύμα (Andreano & Brace 2013). Επιπλέον, η MWA επιτυγχάνει γρήγορα υψηλές θερμοκρασίες με μείωση του χρόνου θεραπείας, μπορεί να δημιουργήσει σχετικά μεγάλες ζώνες κατάλυσης με παρόμοια αποτελέσματα σε διάφορους τύπους ιστών και είναι σχετικά μη ευαίσθητη στις επιδράσεις απορρόφησης θερμότητας των μεγάλων αιμοφόρων αγγείων γύρω από τον όγκο (Andreano & Brace 2013).

Είναι σημαντικό ότι υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί της MWA που μπορεί να μειώσουν την εφαρμογή της στην κτηνιατρική ογκολογία. Η αναγκαιότητα μηχανισμών ψύξης στις κεραίες μικροκυμάτων περιπλέκει τις διαδικασίες θεραπείας. Επιπλέον, υπάρχει μια σημαντική κλινική καμπύλη εκμάθησης λόγω των υψηλών θερμοκρασιών και της ταχείας αύξησης της θερμοκρασίας που επιτυγχάνεται κατά τη διάρκεια της θεραπείας (Andreano & Brace 2013). Τέλος, η MWA είναι μια πιο πρόσφατη προσέγγιση της θερμικής αφαίρεσης όγκων και είναι εγγενώς λιγότερο διερευνημένη από άλλες μεθόδους θερμικής αφαίρεσης και, ως εκ τούτου, τα κλινικά δεδομένα είναι ελάχιστα. Η ανάπτυξη βελτιωμένων συστημάτων MWA που αντιμετωπίζουν αυτούς τους περιορισμούς έχει οδηγήσει σε αυξημένη εφαρμογή της MWA στον άνθρωπο, η οποία μπορεί να μεταφραστεί στις κτηνιατρικές εφαρμογές. Παρά τη σχετικά πρόσφατη εισαγωγή της MWA στην κτηνιατρική, έχει διερευνηθεί σε περιορισμένο βαθμό για εφαρμογές στην κατάλυση όγκων ιστών υψηλότερης αντίστασης, όπως το ήπαρ, ο πνεύμονας, οι νεφροί και τα οστά.

Σε μια μελέτη όπου συμμετείχαν πέντε σκύλοι με

and rapid temperature increases achieved during treatment (Andreano & Brace 2013). Finally, MWA is a more recent iteration of thermal tumor ablation and is inherently less explored than other thermal ablation modalities, and therefore clinical data is sparse. Development of improved MWA systems that address these limitations has led to increased application of MWA in humans, which may translate to the veterinary applications. Despite the relatively recent introduction of MWA into veterinary medicine, it has been limitedly explored for applications in the ablation of tumors of higher impedance tissues such as the liver, lung, kidney, and bone.

In a study of five dogs with nonresectable primary and metastatic liver tumors, MWA was performed without procedural complications (Yang et al. 2017). However, assessing survival benefit and disease-free periods were not within the scope of this study. In a study including two dogs with metastatic hemangiosarcoma of the liver and primary hepatocellular carcinoma, technical feasibility of laparoscopic MWA was established, with no procedural complications (Oramas et al. 2019). This study also probed six canine cadavers to confirm that all liver lobes were laparoscopically accessible for MWA, suggesting that laparoscopic MWA may be a feasible, minimally-invasive treatment option for nonresectable hepatic neoplasia. Percutaneous MWA has also been successfully applied for the treatment of renal carcinoma in one dog, with no complications occurring and the dog still alive 3 years post-treatment (Culp et al. 2017).

MWA has also been explored for the treatment of both metastatic and primary appendicular osteosarcoma. In a 10-year old mixed breed dog with pulmonary metastasis secondary to appendicular osteosarcoma, video-assisted MWA was performed thoracoscopically without complication (Mazzaccari et al. 2017). The dog lived for 257 days after the procedure with improved clinical signs after treatment, however the patient had previously undergone doxorubicin and carboplatin chemotherapy prior to the diagnosis of the pulmonary lesion, and it is likely that the observed survival benefit after MWA is partially attributable to the chemotherapy. In another study of two dogs with appendicular osteosarcoma with presumptive pulmonary metastasis undergoing chemotherapy, Dornbush et al. performed percutaneous MWA under ultrasound and CT image guidance (Dornbusch et al. 2020).

μη εξαιρέσιμους πρωτοπαθείς και μεταστατικούς όγκους του ήπατος, η MWA πραγματοποιήθηκε χωρίς διεγχειρητικές επιπλοκές (Yang et al. 2017). Ωστόσο, η αξιολόγηση του οφέλους επιβίωσης και των περιόδων χωρίς νόσο δεν ήταν στο πλαίσιο αυτής της μελέτης. Σε μια μελέτη που περιελάμβανε δύο σκύλους με μεταστατικό αιμαγγειοσάρκωμα του ήπατος και πρωτοπαθές ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, διαπιστώθηκε η τεχνική σκοπιμότητα της λαπαροσκοπικής MWA, χωρίς διεγχειρητικές επιπλοκές (Oramas et al. 2019). Αυτή η μελέτη χρησιμοποίησε επίσης έξι πτώματα σκύλων για να επιβεβαιώσει ότι όλοι οι λοβοί του ήπατος ήταν λαπαροσκοπικά προσβάσιμοι για MWA, γεγονός που υποδηλώνει ότι η λαπαροσκοπική MWA μπορεί να είναι μια εφικτή, ελάχιστα επεμβατική θεραπευτική επιλογή για μη εξαιρέσιμες ηπατικές νεοπλασίες. Η διαδερμική MWA έχει επίσης εφαρμοστεί με επιτυχία για τη θεραπεία καρκίνου του νεφρού σε έναν σκύλο, χωρίς να παρουσιαστούν επιπλοκές και ο σκύλος εξακολουθεί να ζει 3 χρόνια μετά τη θεραπεία. (Culp et al. 2017).

Η MWA έχει επίσης διερευνηθεί για τη θεραπεία τόσο του μεταστατικού όσο και του πρωτοπαθούς (primary appendicular osteosarcoma) οστεοσαρκώματος των άκρων. Σε σκύλο μικτής φυλής ηλικίας 10 ετών με πνευμονική μετάσταση οστεοσαρκώματος των άκρων, η υποβοηθούμενη με βίντεο MWA διενεργήθηκε θωρακοσκοπικά χωρίς επιπλοκές (Mazzaccari et al. 2017). Ο σκύλος έζησε 257 ημέρες μετά την επέμβαση με βελτιωμένα κλινικά σημεία μετά τη θεραπεία, ωστόσο ο ασθενής είχε προηγουμένως υποβληθεί σε χημειοθεραπεία με δοξορουβικίνη και καρβοπλατίνη πριν από τη διάγνωση της πνευμονικής βλάβης και είναι πιθανό το παρατηρούμενο όφελος επιβίωσης μετά τη MWA να οφείλεται εν μέρει στη χημειοθεραπεία. Σε μια άλλη μελέτη δύο σκύλων με οστεοσάρκωμα των άκρων με πιθανή πνευμονική μετάσταση υπό χημειοθεραπεία, οι Dornbush et al. πραγματοποίησαν διαδερμική MWA υπό την καθοδήγηση υπερήχων και αξονικής τομογραφίας. (Dornbush et al. 2020). Σε αυτή τη μελέτη, και οι δύο σκύλοι υπέστησαν ήπιο και μέτριο πνευμοθώρακα κατά τη διάρκεια της επέμβασης, με χρόνους επιβίωσης που ήταν συγκρίσιμοι με τους σκύλους που δεν έλαβαν θεραπεία. Ωστόσο, η επέμβαση κόστισε 50-66% όσο μια θωρακοτομή με λοβεκτομή πνεύμονα, γεγονός που υποδηλώνει ότι η MWA των πνευμονικών μεταστάσεων μπορεί να είναι σημαντικά πιο αποδοτική από τη χειρουργική επέμβαση.

Η χρήση της MWA για τη θεραπεία όγκων των οστών παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, λόγω της υψηλής ηλεκτρικής αντίστασης των οστών που περιορίζει την εφαρμογή άλλων μεθόδων θε-

In this study, both dogs sustained mild and moderate pneumothorax during the procedure, with survival times that were comparable to dogs that did not receive therapy. However, the procedure was 50-66% as expensive as a thoracotomy with lung lobectomy, suggesting that MWA of lung metastasis may be significantly more cost effective than surgery.

The use of MWA for the treatment of bone tumors is of particular interest, due to the high impedance of bone that limits application of other thermal ablation modalities. MWA for the treatment of neoplastic bone has been limitedly explored, with extremely variable clinical responses. In the first veterinary pilot study of MWA for bone tumors, six dogs with distal radial osteosarcoma were treated with fluoroscopy-guided MWA (Salyer et al. 2020). There were no procedural complications, but long-term follow up on clinical signs was not reported. Tumor necrosis post-treatment varied significantly between 30 and 90%, necessitating larger sample sizes and longer follow-ups to further assess applicability of MWA for the treatment of bone tumors in dogs.

Radiofrequency ablation

Radiofrequency ablation (RFA) applies alternating electrical currents (200-1, 200 Hz) between interstitial electrodes, to activate the Joule effect. Under the Joule effect, flow of the electric current causes ions in adjacent tissues to rapidly oscillate, which raises tissue temperature near the electrodes via friction (Hong & Georgiades 2010). The resulting thermal ablation zone can then grow via thermal diffusion and conduction. RFA can be monopolar, in which current is transmitted through an interstitial electrode and returns through grounding pads on the skin, or bipolar, in which current oscillates between two interstitial electrodes in the absence of a grounding pad (Hong & Georgiades 2010).

Despite the minimally-invasive nature of RFA and customizability of treatment with electrode configurations, there are significant setbacks to this modality that limit its application in veterinary medicine. Dermal wounds can easily occur during treatment if there are insufficient quantities or uneven placement of grounding pads (Rhim et al. 2004). The nature of RFA also limits its application to certain tissue types. Specifically, heat transfer via conduction is slow and struggles to overcome local tissue perfusion and

μικής κατάλυσης. Η MWA για τη θεραπεία νεοπλασμάτων των οστών έχει διερευνηθεί περιορισμένα, με εξαιρετικά διαφορετικά κλινικά αποτελέσματα. Στην πρώτη κτηνιατρική πιλοτική μελέτη της MWA για οστικούς όγκους, έξι σκύλοι με οστεοσάρκωμα της περιφερικής κερκίδας υποβλήθηκαν σε θεραπεία με καθοδηγούμενη με ακτινοσκόπηση MWA (Salyer et al. 2020). Δεν υπήρξαν επιπλοκές κατά τη διαδικασία, αλλά δεν αναφέρθηκε μακροχρόνια παρακολούθηση των κλινικών συμπτωμάτων. Η νέκρωση του όγκου μετά τη θεραπεία κυμαινόταν μεταξύ 30 και 90%, γεγονός που σημαίνει πως απαιτούνται μεγαλύτερες και με πιο μακροχρόνια παρακολούθηση μελέτες, για την περαιτέρω αξιολόγηση της MWA για τη θεραπεία οστικών όγκων σε σκύλους.

Κατάλυση με ραδιοσυχνότητες

Η κατάλυση με ραδιοσυχνότητες (RFA) εφαρμόζει εναλλασσόμενα ηλεκτρικά ρεύματα (200-1.200 Hz) μεταξύ ηλεκτροδίων για την ενεργοποίηση του φαινομένου Joule. Στο πλαίσιο του φαινομένου Joule, η ροή του ηλεκτρικού ρεύματος προκαλεί ταχεία ταλάντωση των ιόντων στους παρακείμενους ιστούς, η οποία αυξάνει τη θερμοκρασία των ιστών κοντά στα ηλεκτρόδια μέσω τριβής (Hong & Georgiades 2010). Η προκύπτουσα ζώνη θερμικής κατάλυσης μπορεί στη συνέχεια να αυξηθεί μέσω θερμικής διάχυσης και αγωγής. Η RFA μπορεί να είναι μονοπολική, κατά την οποία το ρεύμα μεταδίδεται μέσω ενός διάμεσου ηλεκτροδίου και επιστρέφει μέσω επιφανειών γείωσης στο δέρμα, ή διπολική, κατά την οποία το ρεύμα ταλαντώνεται μεταξύ δύο διάμεσων ηλεκτροδίων ελλείψει επιφανειακής γείωσης. (Hong & Georgiades 2010).

Παρά την ελάχιστη επεμβατική φύση της RFA και την προσαρμοστικότητα της θεραπείας με τις διαμορφώσεις των ηλεκτροδίων, υπάρχουν σημαντικά μειονεκτήματα σε αυτή τη μέθοδο που περιορίζουν την εφαρμογή της στην κτηνιατρική. Κατά τη διάρκεια της θεραπείας μπορούν εύκολα να προκληθούν τραύματα στο δέρμα εάν δεν χρησιμοποιηθούν επαρκή ή σωστά τοποθετημένα μαξιλάρια γείωσης (Rhim et al. 2004). Η φύση της RFA περιορίζει επίσης την εφαρμογή της σε ορισμένους τύπους ιστών. Συγκεκριμένα, η μεταφορά θερμότητας μέσω αγωγής είναι αργή και δυσκολεύεται να ξεπεράσει την τοπική ιστική αιμάτωση ή τον αερισμό στους περισσότερους ιστούς, γεγονός που οδηγεί σε σημαντική διακύμανση των ζωνών RFA ανάλογα με την ετερογένεια του ιστού.

Εκτός από τις εφαρμογές για τη θεραπεία του υπερθυρεοειδισμού (Mallery et al. 2003) και του υπερπαραθυρεοειδισμού (Pollard et al. 2001), η πλειονότητα της χρήσης της RFA στην κτηνιατρι-

ventilation in most tissues, which leads to significant variation in RFA zones depending on the tissue heterogeneity.

In addition to applications for the treatment of hyperthyroidism (Mallery et al. 2003) and hyperparathyroidism (Pollard et al. 2001), the majority of the use of RFA in veterinary oncology has been in experimental tumor models, with limited case reports in spontaneous disease. To the best of the authors' knowledge, the only cases of the use of RFA for the ablation of spontaneous tumors in veterinary patients are for prostatic carcinoma and cardiac chemodectomas. In the case of one dog diagnosed with prostatic carcinoma, RFA was performed intraoperatively via direct visualization of the prostate tumor, with successful ablation and no complications (Culp et al. 2017). In the first description of percutaneous echo-guided RFA of aortic tumors, ultrasound-guided RFA was used to treat chemodectomas in five dogs, yielding no complications during the procedure or in the following 24 hours (Gomez Ochoa et al. 2021). Procedures were generally 35 minutes long with discharge times of two hours, suggesting that echo-guided RFA may be a robust and cost-effective method for treatment of cardiac tumors in dogs. There was a marked reduction in tumor size in all dogs one month after treatment, and these size reductions were only slight three months after treatment, suggesting incomplete ablation. However, one dog was treated with a second percutaneous echo-guided RFA eight months later to relieve vena cava compression, and the dog remained stable 6 months after this procedure, suggesting that serial echo-guided RFA may be feasible for the treatment of canine chemodectomas (Gomez Ochoa et al. 2021).

High-intensity focused ultrasound (HIFU) ablation

HIFU ablation involves the delivery of high power, converging ultrasound beams from an extracorporeal ultrasound transducer into targeted tissue volumes (Figure 2). The mechanical vibration of the focused sound waves generates heat in the tissue, causing coagulative necrosis of target tissue within the focal plane of the ultrasound beam (Ter Haar 2016). HIFU ablation is performed under MR or ultrasound image guidance, and is considered the least invasive thermal ablation modality when using an extracorporeal transducer for the ablation of superfi-

κή ογκολογία έχει γίνει σε πειραματικά μοντέλα όγκων, με περιορισμένες αναφορές περιστατικών σε ζώα πελατών. Εξ όσων γνωρίζουν οι συγγραφείς, οι μόνες περιπτώσεις χρήσης RFA για την κατάλυση όγκων σε κτηνιατρικούς ασθενείς είναι για το καρκίνωμα του προστάτη και τα καρδιακά χημειοδεκτώματα. Στην περίπτωση ενός σκύλου που διαγνώστηκε με καρκίνωμα του προστάτη, η RFA πραγματοποιήθηκε διεγχειρητικά μέσω ανοικτής επέμβασης για όγκο του προστάτη, με επιτυχή κατάλυση και χωρίς επιπλοκές (Culpr et al. 2017). Στην πρώτη περιγραφή της διαδερμικής ηχοκαθοδηγούμενης RFA αορτικών όγκων, η RFA υπό υπερηχογραφική καθοδήγηση χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία χημειοδεκτωμάτων σε πέντε σκύλους, χωρίς επιπλοκές κατά τη διάρκεια της επέμβασης ή τις επόμενες 24 ώρες (Gomez Ochoa et al. 2021). Οι επεμβάσεις διαρκούσαν γενικά 35 λεπτά με χρόνους ολοκλήρωσης της επίσκεψης δύο ωρών, γεγονός που υποδηλώνει ότι η ηχοκαθοδηγούμενη RFA μπορεί να είναι μια αποτελεσματική και οικονομικά αποδοτική μέθοδος για τη θεραπεία καρδιακών όγκων σε σκύλους. Υπήρξε αξιοσημείωτη μείωση του μεγέθους του όγκου σε όλους τους σκύλους ένα μήνα μετά τη θεραπεία ενώ η ελάττωση του μεγέθους του όγκου ήταν μικρότερη τρεις μήνες μετά τη θεραπεία, γεγονός που υποδηλώνει ατελή κατάλυση. Ωστόσο, ένας σκύλος υποβλήθηκε σε θεραπεία με δεύτερη διαδερμική ηχοκαθοδηγούμενη RFA οκτώ μήνες αργότερα για την ανακούφιση της συμπίεσης της κοίλης φλέβας και ο σκύλος παρέμεινε σταθερός 6 μήνες μετά από αυτή τη διαδικασία, γεγονός που υποδηλώνει ότι η επανάληψη της ηχοκαθοδηγούμενης RFA μπορεί να είναι εφικτή για τη θεραπεία των χημειοδεκτωμάτων σκύλων. (Gomez Ochoa et al. 2021).

Κατάλυση με υπερήχους υψηλής έντασης (HIFU)

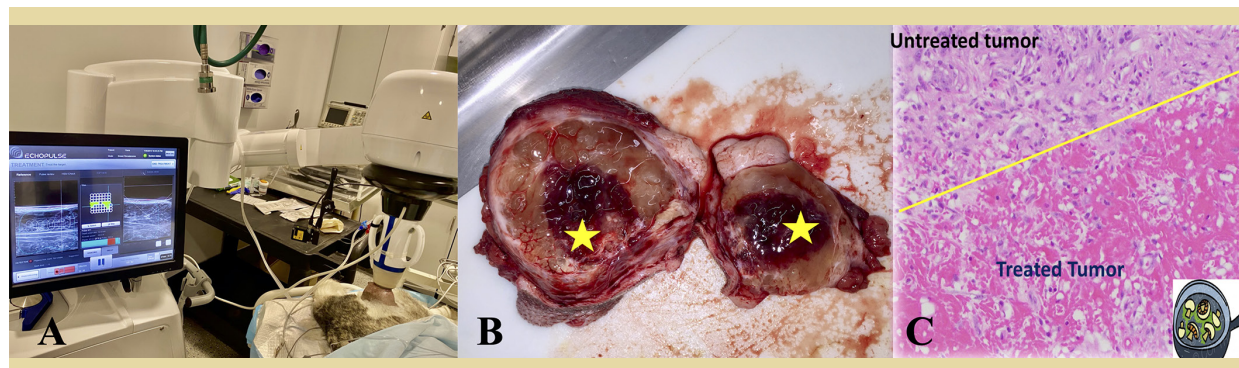
Η κατάλυση HIFU περιλαμβάνει την παροχή συγκλίνουσας δέσμης υπερήχων υψηλής ισχύος από εξωσωματικό εστιακό υπερηχογράφο προς τους στοχευμένους όγκους (Εικόνα 2). Η μηχανική δόνηση των εστιασμένων ηχητικών κυμάτων παράγει θερμότητα στον ιστό, προκαλώντας πηκτική νέκρωση του ιστού-στόχου εντός του εστιακού επιπέδου της δέσμης υπερήχων (Ter Haar 2016). Η κατάλυση HIFU πραγματοποιείται υπό καθοδήγηση με μαγνητική τομογραφία ή τη βοήθεια υπερήχων και θεωρείται η λιγότερο επεμβατική μέθοδος θερμικής εκτομής όταν χρησιμοποιείται εξωσωματικός εστιακός υπερηχογράφος για την καταστροφή επιφανειακών καλοήθων όγκων που δεν περιβάλλονται από οστά και αέρα. (Knavel & Brace 2013). Η HIFU μπορεί επίσης να εκτελεστεί με διορθικούς, διάμεσους και διαδερμικούς εστι-

cial and benign tumors not surrounded by bone and air (Knavel & Brace 2013). HIFU can also be performed with transrectal, interstitial, and percutaneous transducers for the ablation of prostate tumors, biliary and esophageal tumors, and deeper tumors with limitations, respectively (Ter Haar 2016).

In addition to being the only completely non-invasive thermal ablation modality, HIFU ablation can generally be performed with high precision between treated and untreated tissue. However, HIFU ablation is potentially less effective for deeper tumors because of low penetrance of ultrasound through tissues (Ter Haar 2016). Additionally, there is risk of skin burns, peripheral nerve damage, and intestinal injury due to scatter and reflection of ultrasound waves, particularly when treating in areas obstructed by bone, that lead to off-target beam focus (Seward et al. 2019). HIFU ablation is further limited in its use in areas that are subject to respiratory motion due to decreased precision, or are shielded by bone (Seward et al. 2019).

HIFU ablation has a wide range of clinical application for tumor ablation in veterinary oncology, but many studies are retrospective in nature and there have been few controlled clinical trials of the use of HIFU tumor ablation in veterinary patients.

Ryu et al. report a retrospective study of eleven dogs that underwent HIFU ablation of solid tumors, which included multiple transitional cell carcinomas of the bladder, as well as carcinomas and mast cell tumors of the mammary gland, orbit, hip, and abdominal cavity (Ryu et al. 2018). The majority of truncal and axillary tumors and all extremity tumors were targetable with HIFU, while head and spinal tumors were the least targetable tumor types. Clinical signs improved in five of the treated dogs, while stopping bleeding in four dogs with hemorrhagic tumors despite some complications including hyperthermia, erythema, enteritis, and skin burns. The optimal treatment volume for HIFU ablation of STS was determined to be $\leq 200 \text{ cm}^3$, with optimal and maximum target depths of $\leq 8 \text{ cm}$ and $\leq 11 \text{ cm}$, respectively. In another retrospective study of dogs with soft tissue sarcoma, based on imaging analysis, accessibility of the tumor site by ultrasound beam, and proximity to the spinal cord, Seward et al. report that 81% of dogs diagnosed with soft tissue sarcoma had tumors targetable with MR-guided HIFU ablation. Head and spinal



Σχήμα 2. Θεραπεία υποδόριων όγκων με εστιασμένους υπερήχους υψηλής έντασης (HIFU) σε ασθενείς σκύλους. Α) Ένας σκύλος που διαγνώστηκε με σάρκωμα μαλακών μορίων χαμηλού βαθμού βρίσκεται υπό εισπνευστική γενική αναισθησία. Μια κλινική συσκευή HIFU καθοδηγούμενη με υπερήχους χρησιμοποιείται για τη στόχευση του όγκου που βρίσκεται στον αριστερό πλάγιο μηρό του σκύλου. Η μονάδα θεραπείας τοποθετείται πάνω από τον στοχευόμενο όγκο και η θεραπεία παρακολουθείται σε πραγματικό χρόνο μέσω υπερηχοτομογραφίας. (Β) Μακροσκοπική εικόνα ενός όγκου που έχει υποστεί θεραπεία με HIFU. Το κίτρινο αστέρι υποδεικνύει το στοχευόμενο τμήμα του όγκου, το οποίο χαρακτηρίζεται από διάχυτη αιμορραγία και σκούρο κόκκινο έως μαύρο χρώμα. (C) Εικόνα μικροσκοπίου του στοχευμένου όγκου με χρώση H&E, η οποία καταδεικνύει πηκτική νέκρωση και αιμορραγία στο στοχευόμενο σημείο, που διαγράφεται έντονα από τον μη στοχευόμενο ιστό του όγκου (κίτρινη γραμμή). (πηγή εικόνων: προσωπικό αρχείο συγγραφέων)

Figure 2. High-intensity focused ultrasound (HIFU) treatment of subcutaneous tumors in canine patients. A) A dog diagnosed with a low grade soft tissue sarcoma is under inhalational general anesthesia. A clinical ultrasound-guided HIFU device is used to target the tumor located at the left lateral thigh of the dog. The treatment unit is positioned over the targeted tumor, and the treatment is monitored in real time via ultrasonography. (B) Gross image of a HIFU-treated tumor. The yellow star indicates the treated portion of the tumor, characterized by diffuse hemorrhage and dark red to black color. (C) Microscopy image of the treated tumor stained with standard H&E, demonstrating coagulative necrosis and haemorrhage at the treated site, sharply delineated from the untreated tumor tissue (yellow line). (source of the images: personal authors' file)

ακούς υπερηχογράφους για την εκτομή όγκων του προστάτη, όγκων της χολής και του οισοφάγου και βαθύτερων όγκων με περιορισμούς, αντίστοιχα (Ter Haar 2016).

Εκτός του ότι είναι η μόνη εντελώς μη επεμβατική μέθοδος θερμικής κατάλυσης, η κατάλυση με HIFU μπορεί γενικά να πραγματοποιηθεί με μεγάλη ακρίβεια μεταξύ υγιούς και μη υγιούς ιστού. Ωστόσο, η κατάλυση με HIFU είναι δυνητικά λιγότερο αποτελεσματική για βαθύτερους όγκους λόγω της χαμηλής διείσδυσης των υπερήχων μέσω των ιστών (Ter Haar 2016). Επιπλέον, υπάρχει κίνδυνος δερματικών εγκαυμάτων, βλάβης των περιφερικών νεύρων και εντερικού τραυματισμού λόγω της σκέδασης και της ανάκλασης των κυμάτων υπερήχων, ιδίως κατά τη θεραπεία σε περιοχές περιβάλλονται από οστά, που οδηγούν σε εστίαση της δέσμης εκτός στόχου. (Seward et al. 2019). Η κατάλυση με HIFU περιορίζεται περαιτέρω στη χρήση της σε περιοχές που υπόκεινται σε αναπνευστική κίνηση λόγω μειωμένης ακρίβειας ή προστατεύονται από οστά (Seward et al. 2019).

Η κατάλυση HIFU έχει ευρύ φάσμα κλινικών εφαρμογών για την εκτομή όγκων στην κτηνιατρική ογκολογία, αλλά πολλές μελέτες είναι αναδρομικής φύσης και έχουν διεξαχθεί λίγες ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές για τη χρήση της εκτομής

tumors were least likely to be targetable, but all extremity tumors and most truncal and axillary tumors were considered targetable, suggesting potentially wide clinical application of HIFU ablation for the treatment of canine soft tissue sarcoma.

Clinical trial evaluation of HIFU ablation of spontaneous tumors in veterinary patients is limited, but a number of small studies have been reported evaluating HIFU ablation for a variety of tumor types, both superficial and deep. Koppelman et al. investigated the use of MR-guided HIFU for the ablation of hepatocellular carcinoma in one dog, applying four separate treatments over eight weeks. Following excision of the tumor after the final HIFU treatment, HIFU appeared to target the tumor with high precision but induced focal thermal injury to the cartilage of the right lower ribs, causing infection requiring surgical intervention and negating the noninvasive nature of the HIFU ablation (Koppelman et al. 2006). Although the patient was healthy ten months post-treatment, this study highlights the potential risks of applying HIFU ablation to deep-seated tumors. HIFU ablation has been shown to successfully induce total tu-

όγκων HIFU σε κτηνιατρικούς ασθενείς. Οι Ryu et al. αναφέρουν μια αναδρομική μελέτη έντεκα σκύλων που υποβλήθηκαν σε καταστροφή συμπαγών όγκων με HIFU, οι οποίοι περιελάμβαναν πολλαπλά καρκινώματα μεταβατικών κυττάρων της ουροδόχου κύστης, καθώς και καρκινώματα και μαστοκυττώματα του μαστικού αδένου, του οφθαλμικού κόγχου, του ισχίου και της κοιλιακής κοιλότητας (Ryu et al. 2018). Η πλειονότητα των όγκων του κορμού και της μασχάλης και όλοι οι όγκοι των άκρων ήταν στοχεύσιμοι με HIFU, ενώ οι όγκοι της κεφαλής και της σπονδυλικής στήλης ήταν οι λιγότερο στοχεύσιμοι τύποι όγκων. Τα κλινικά σημεία βελτιώθηκαν σε πέντε από τους σκύλους που υποβλήθηκαν σε θεραπεία, ενώ σταμάτησε η αιμορραγία σε τέσσερις σκύλους με αιμορραγικούς όγκους παρά τις ορισμένες επιπλοκές, όπως υπερθερμία, ερύθημα, εντερίτιδα και εγκαύματα στο δέρμα. Ο βέλτιστος όγκος θεραπείας για την εκτομή HIFU του STS προσδιορίστηκε ότι είναι $\leq 200 \text{ cm}^3$, με βέλτιστο και μέγιστο βάθος στόχου $\leq 8 \text{ cm}$ και $\leq 11 \text{ cm}$, αντίστοιχα. Σε μια άλλη αναδρομική μελέτη σε σκύλους με σάρκωμα μαλακών μορίων, με βάση την ανάλυση της απεικόνισης, την προσβασιμότητα της περιοχής του όγκου από τη δέσμη υπερήχων και την εγγύτητα στον νωτιαίο μυελό, οι Seward και συν. αναφέρουν ότι το 81% των σκύλων που διαγνώστηκαν με σάρκωμα μαλακών μορίων είχαν όγκους που μπορούσαν να στοχευθούν με MR-καθοδηγούμενη κατάλυση με HIFU. Οι όγκοι της κεφαλής και της σπονδυλικής στήλης ήταν λιγότερο πιθανό να είναι στοχεύσιμοι, αλλά όλοι οι όγκοι των άκρων και οι περισσότεροι όγκοι του κορμού και της μασχάλης θεωρήθηκαν στοχεύσιμοι, γεγονός που υποδηλώνει δυνητικά ευρεία κλινική εφαρμογή της κατάλυσης με HIFU για τη θεραπεία του σαρκώματος μαλακών μορίων σκύλων.

Η αξιολόγηση σε κλινικές δοκιμές της κατάλυσης αυθόρμητων όγκων με HIFU σε κτηνιατρικούς ασθενείς είναι περιορισμένη, αλλά έχει αναφερθεί ένας αριθμός μικρών μελετών που αξιολογούν την κατάλυση με HIFU για διάφορους τύπους όγκων, τόσο επιφανειακούς όσο και βαθύτερους. Οι Kopelman et al. διερεύνησαν τη χρήση της MR-καθοδηγούμενης HIFU για την κατάλυση ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε έναν σκύλο, εφαρμόζοντας τέσσερις ξεχωριστές θεραπείες σε διάστημα οκτώ εβδομάδων. Μετά την εκτομή του όγκου μετά την τελευταία θεραπεία HIFU, η HIFU φάνηκε να στοχεύει τον όγκο με μεγάλη ακρίβεια, αλλά προκάλεσε εστιακά θερμική βλάβη στο χόνδρο των δεξιών κάτω πλευρών, προκαλώντας λοίμωξη που απαιτούσε χειρουργική επέμβαση και αναιρώντας τη μη επεμβατική φύση της εκτομής με HIFU (Kopelman et al. 2006). Παρόλο που ο ασθε-

mor remission of a large oral neurilemmoma of the left maxilla of one canine patient, despite some procedural adverse events including buccal mucosa burns requiring surgical and hyperbaric oxygen management (Ranjan et al. 2021). While suggesting that HIFU ablation may circumvent the need for surgical resection of bony tissue in the treatment of canine oral cancer, this study also identified elevated proliferation of T cells in tumor and blood samples, suggesting that HIFU ablation may further its antitumor effect via engagement of the immune system. In a clinical trial of HIFU ablation of spontaneous tumors in veterinary patients, superficial tumors of the neck, leg, face, back, and belly were treated with MR-guided HIFU in six dogs and four cats (Antonίου et al. 2022). Coagulative necrosis of the tumor was evident in 80% of cases, but lower magnification histological images falsely suggested total destruction of all cancer cells, while higher magnification images revealed intact cancer cells. This suggests that HIFU may be most effective when used as an adjunct to radiation therapy or chemotherapy in order to ensure total elimination of tumor cells. In the largest clinical trial of HIFU ablation of spontaneous tumors in veterinary patients to date, Carroll et al. performed HIFU for partial tumor ablation in twenty dogs diagnosed with subcutaneous solid tumors, including fifteen soft tissue sarcomas, three mast cell tumors, one osteosarcoma, and one thyroid carcinoma. HIFU treatment was well-tolerated, with only one dog experiencing a clinically significant adverse event. A degranulation event occurred in a patient diagnosed with a mast cell tumor, which was restricted to the tumor site and subsequently addressed during the planned surgical resection post-HIFU. Tumors were resected three to six days after HIFU treatment, with complete tissue ablation and immune cell infiltration evident on pathology and immunohistochemistry. Additionally, this study identified an increase in the expression of T-cell activation-related genes post-HIFU ablation, suggesting that HIFU may induce immunostimulatory changes to modulate the tumor microenvironment (Carroll et al. 2022). Ablation of the entire tumor was not a goal of this study, and therefore additional work is needed to assess survival and clinical benefit of HIFU ablation of subcutaneous tumors, both as a sole treatment modality and as an adjunct to standard therapies for the treatment of subcutaneous tumors

νης ήταν υγιής δέκα μήνες μετά τη θεραπεία, η μελέτη αυτή υπογραμμίζει τους πιθανούς κινδύνους της εφαρμογής της κατάλυσης με HIFU σε εν τω βάθει όγκους. Έχει δειχθεί ότι η κατάλυση με HIFU προκάλεσε με επιτυχία πλήρη ύφεση του όγκου σε ένα μεγάλο στοματικό νευριλείωμα (σβάννωμα) της αριστερής άνω γνάθου ενός ασθενούς σκύλου, παρά τις ορισμένες ανεπιθύμητες παρενέργειες, συμπεριλαμβανομένων των εγκαυμάτων του στοματικού βλεννογόνου που απαιτούσαν χειρουργική και υπερβαρική θεραπεία με οξυγόνο. (Ranjan et al. 2021). Ενώ υποδηλώνει ότι η κατάλυση με HIFU μπορεί να παρακάμψει την ανάγκη για χειρουργική εκτομή του οστικού ιστού στη θεραπεία του καρκίνου του στόματος των σκύλων, η μελέτη αυτή εντόπισε επίσης αυξημένο πολλαπλασιασμό των T κυττάρων σε δείγματα όγκου και αίματος, υποδηλώνοντας ότι η κατάλυση με HIFU μπορεί να ενισχύσει την αντικαρκινική της δράση μέσω της εμπλοκής του ανοσοποιητικού συστήματος. Σε μια κλινική δοκιμή κατάλυσης αυθόρμητων όγκων με HIFU σε κτηνιατρικούς ασθενείς, επιφανειακοί όγκοι του λαιμού, του ποδιού, του προσώπου, της πλάτης και της κοιλιάς αντιμετωπίστηκαν με MR-καθοδηγούμενη HIFU σε έξι σκύλους και τέσσερις γάτες. (Antonίου et al. 2022). Η πηκτική νέκρωση του όγκου ήταν εμφανής στο 80% των περιπτώσεων, αλλά οι ιστολογικές εικόνες χαμηλότερης μεγέθυνσης υπέδειξαν εσφαλμένα την πλήρη καταστροφή όλων των καρκινικών κυττάρων, ενώ οι εικόνες υψηλότερης μεγέθυνσης αποκάλυψαν άθικτα καρκινικά κύτταρα. Αυτό υποδηλώνει ότι η HIFU μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική όταν χρησιμοποιείται ως συμπλήρωμα της ακτινοθεραπείας ή της χημειοθεραπείας, προκειμένου να εξασφαλιστεί η πλήρης εξάλειψη των καρκινικών κυττάρων. Στη μεγαλύτερη μέχρι σήμερα κλινική δοκιμή θεραπείας αυθόρμητων όγκων με HIFU σε κτηνιατρικούς ασθενείς, οι Carroll et al. πραγματοποίησαν HIFU για μερική κατάλυση όγκων σε είκοσι σκύλους που είχαν διαγνωστεί με υποδόριους συμπαγείς όγκους, συμπεριλαμβανομένων δεκαπέντε σαρκωμάτων μαλακών μορίων, τριών μαστοκυττωμάτων, ενός οστεοσαρκώματος και ενός καρκινώματος του θυρεοειδούς. Η θεραπεία με HIFU ήταν καλά ανεκτή, με μόνο έναν σκύλο να εμφανίζει κλινικά σημαντικό ανεπιθύμητο συμβάν. Ένα συμβάν αποκοκκίωσης σημειώθηκε σε έναν ασθενή που διαγνώστηκε με μαστοκύττωμα, το οποίο περιορίστηκε στη θέση του όγκου και στη συνέχεια αντιμετωπίστηκε κατά τη διάρκεια της προγραμματισμένης χειρουργικής εκτομής μετά τη HIFU. Οι όγκοι αφαιρέθηκαν τρεις έως έξι ημέρες μετά τη θεραπεία με HIFU, με πλήρη καταστροφή του στοχευμένου ιστού και διήθηση ανο-

in dogs and cats.

Nonthermal Energy-Based Ablation in Veterinary Medicine

Energy-based tumor ablation can also be achieved via nonthermal mechanisms. In nonthermal tumor ablation modalities, energy is still applied to tumors, but rather than inducing temperature changes in the tissue to kill cells via thermal mechanisms, these modalities apply energy to manipulate cellular properties or mechanically disrupt target cells to kill cells via nonthermal mechanisms. By not relying on temperature changes within tissue to kill neoplastic cells, which are dependent on tissue properties that are highly heterogenous in neoplastic tissue, nonthermal tumor ablation may achieve more uniform ablation and be more widely applicable across various tissue types and near critical structures. Nonthermal ablation modalities of interest in veterinary medicine include histotripsy, irreversible electroporation (IRE), and high-frequency irreversible electroporation (H-FIRE).

Histotripsy

Histotripsy is a recently developed noninvasive, non-ionizing, mechanical, cavitation-based therapy that employs pulsed high-intensity focused ultrasound waves for the nonthermal destruction of targeted tissues (Bader et al. 2019, Xu et al. 2021). Histotripsy involves the delivery of very high amplitude, short-duration ultrasound pulses, which generate a dense, energetic bubble cloud in the tissue, resulting in mechanical tissue fractionation following repeated expansion and collapse of bubbles of endogenous gases in tissue upon interaction with the ultrasound beam (Vlaisavljevich et al. 2016b). These cavitation microbubbles are thought to form in the extracellular matrix, the rapid expansion and collapse of which produces high strain and stress on adjacent cells (Vlaisavljevich et al. 2016b), effectively liquifying the target tissue into a homogenate of acellular debris to be reabsorbed by the body over 1-2 months (Vlaisavljevich et al. 2016a).

Tissue-damage thresholds for histotripsy are tissue-specific (Vlaisavljevich et al. 2014), indicating potential for treatment optimization, tumor-specific ablation, and sparing of healthy tissue. Because cell death by histotripsy occurs by binary mechanisms, with cellular damage only

σοκυττάρων εμφανή στην παθολογία και την ανοσοϊστοχημεία. Επιπλέον, αυτή η μελέτη εντόπισε αύξηση της έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με την ενεργοποίηση των T-κυττάρων μετά την εκτομή με HIFU, γεγονός που υποδηλώνει ότι η HIFU μπορεί να προκαλέσει ανοσοδιεγερτικές αλλαγές για τη διαμόρφωση του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. (Carroll et al. 2022). Η αφαίρεση ολόκληρου του όγκου δεν ήταν στόχος αυτής της μελέτης και, ως εκ τούτου, απαιτούνται πρόσθετες εργασίες για την αξιολόγηση της επιβίωσης και του κλινικού οφέλους της αφαίρεσης των υποδόριων όγκων με HIFU, τόσο ως μοναδική θεραπευτική μέθοδος όσο και ως συμπληρωματική μέθοδος στις συνήθειες θεραπείες για τη θεραπεία των υποδόριων όγκων σε σκύλους και γάτες.

Μη-θερμική κατάλυση με βάση την ενέργεια στην κτηνιατρική

Η ενεργειακή κατάλυση του όγκου μπορεί επίσης να επιτευχθεί μέσω μη θερμικών μηχανισμών. Στις μη-θερμικές μεθόδους εκτομής όγκων, η ενέργεια εξακολουθεί να εφαρμόζεται στους όγκους, αλλά αντί να προκαλούνται μεταβολές της θερμοκρασίας στον ιστό για τη θανάτωση των κυττάρων μέσω θερμικών μηχανισμών, αυτές οι μέθοδοι εφαρμόζουν ενέργεια για να χειραγωγήσουν τις κυτταρικές ιδιότητες ή να διαταράξουν μηχανικά τα κύτταρα-στόχους για τη θανάτωση των κυττάρων μέσω μη θερμικών μηχανισμών. Μη βασιζόμενη στις μεταβολές της θερμοκρασίας εντός του ιστού για τη θανάτωση των νεοπλασματικών κυττάρων, οι οποίες εξαρτώνται από τις ιδιότητες του ιστού που είναι εξαιρετικά ετερογενείς στον νεοπλασματικό ιστό, η μη-θερμική κατάλυση όγκων μπορεί να επιτύχει πιο ομοιόμορφη εκτομή και να είναι ευρύτερα εφαρμόσιμη σε διάφορους τύπους ιστών και κοντά σε κρίσιμες ανατομικές δομές. Οι μη-θερμικές μέθοδοι κατάλυσης που παρουσιάζουν ενδιαφέρον στην κτηνιατρική περιλαμβάνουν την ιστοθριψία, τη μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση (IRE) και τη μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση υψηλής συχνότητας (H-FIRE).

Ιστοθριψία

Η ιστοθριψία είναι μια πρόσφατα αναπτυσσόμενη μη επεμβατική, μη ιονίζουσα, μηχανική θεραπεία με βάση τη σπηλαίωση, που χρησιμοποιεί παλμικά εστιασμένα κύματα υπερήχων υψηλής έντασης για τη μη-θερμική καταστροφή των στοχευμένων ιστών (Bader et al. 2019, Xu et al. 2021). Η ιστοθριψία περιλαμβάνει την παροχή παλμών υπερήχων πολύ υψηλού πλάτους, μικρής διάρκειας, οι οποίοι δημιουργούν ένα πυκνό, ενεργειακό νέφος φουσα-

occurring when ultrasound pressure exceeds the cavitation threshold, histotripsy ablation results in very sharp boundaries between ablated and unablated tissue, with transition zone of partial ablation only spanning a few hundred microns (Maxwell et al. 2013). This nonthermal mechanism of histotripsy ablation overcomes many limitations associated with thermal ablation, such as the heat sink effect, lack of precise margins, and predictability of therapy (Xu et al. 2019). The feasibility of using histotripsy as a blood vessel-sparing ablation technique has also been shown in porcine liver in vivo (Vlaisavljevich et al. 2014). Because histotripsy uses extracorporeal transducers, tumor ablation can be performed noninvasively. Additionally, the liquification of the tumor eliminates need for tumor excision, thus reducing risk of surgery-associated complications such as thrombosis (Xu et al. 2021).

The applicability of histotripsy for ablation of tumors in gas-rich organs, such as the lung and gastrointestinal tract, is limited due to the exceptionally low cavitation thresholds in these tissues which could result in significant off-target effects (Xu et al. 2021). Additionally, the application of histotripsy in areas significantly blocked by bone is limited (Xu et al. 2021).

Due to the novelty of the histotripsy technology for tumor ablation, its applications in veterinary medicine are limited but accelerating. Proof of principle studies demonstrate efficacy of histotripsy in ablating excised canine osteosarcoma tumors (Arnold et al. 2021). Additionally, in the first clinical trial of histotripsy for partial ablation of osteosarcoma in five dogs, successful ablation was achieved within target treatment volumes as evidenced by gross pathology and histology, with no significant clinical adverse events (Ruger et al. 2022b). A first in patient pilot study of the same technology has been completed for the treatment of canine soft tissue sarcomas, demonstrating the feasibility, safety, and treatment-induced tumor microenvironment changes (Ruger et al. 2022a). These studies established safety and feasibility of histotripsy for non-invasive treatment of primary bone tumors (Figure 3) and soft tissue sarcomas (Figure 4) in dogs, but additional work is needed to evaluate long-term efficacy and survival benefit. Additional ongoing clinical trials continue to investigate histotripsy for the ablation of canine brain tumors and feline soft tissue sarcoma.

λίδων στον ιστό, με αποτέλεσμα τη μηχανική κλασματοποίηση των ιστών μετά από επαναλαμβανόμενη διαστολή και κατάρρευση των φυσαλίδων των ενδογενών αερίων του ιστού (Vlaisavljevich et al. 2016b). Αυτές οι μικροφυσαλίδες σπηλαίωσης πιστεύεται ότι σχηματίζονται στο εξωκυτταρικό υλικό, και η ταχεία διαστολή και κατάρρευσή τους παράγει υψηλή τάση και καταπόνηση στα παρακείμενα κύτταρα (Vlaisavljevich et al. 2016b), ρευστοποιώντας ουσιαστικά τον ιστό-στόχο σε ένα ομοιογενές από μη-κυτταρικά υπολείμματα που θα επαναρροφηθούν από τον οργανισμό σε διάστημα 1-2 μηνών (Vlaisavljevich et al. 2016a).

Τα κατώτατα όρια βλάβης του ιστού για την ιστοθριψία είναι ειδικά για κάθε ιστό (Vlaisavljevich et al. 2014), υποδεικνύοντας δυνατότητες βελτιστοποίησης της θεραπείας, ειδικά για την κατάλυση του νεοπλασματικού ιστού, και προστατεύοντας τους υγιείς ιστούς. Επειδή ο κυτταρικός θάνατος από την ιστοθριψία συμβαίνει με δυαδικούς μηχανισμούς, με την κυτταρική βλάβη να συμβαίνει μόνο όταν η πίεση υπερήχων υπερβαίνει το κατώφλι σπηλαίωσης, η κατάλυση με ιστοθριψία οδηγεί σε πολύ σαφή όρια μεταξύ ιστού που έχει υποστεί κατάλυση και ιστού που δεν έχει υποστεί κατάλυση με τη μεταβατική ζώνη μερικής κατάλυσης να εκτείνεται μόνο σε μερικές εκατοντάδες μικρόμετρα (Maxwell et al. 2013). Αυτός ο μη-θερμικός μηχανισμός κατάλυσης με ιστοθριψία ξεπερνά πολλούς περιορισμούς που σχετίζονται με τη θερμική κατάλυση, όπως το φαινόμενο της απαγωγής θερμότητας, η έλλειψη ακριβών ορίων και η προβλεψιμότητα της θεραπείας (Xu et al. 2019). Η σκοπιμότητα της χρήσης της ιστοθριψίας ως τεχνικής που προστατεύει τα αιμοφόρα αγγεία έχει επίσης αποδειχθεί στο ήπαρ χοίρου *in vivo* (Vlaisavljevich et al. 2014). Επειδή η ιστοθριψία χρησιμοποιεί εξωσωματικούς εστιακούς υπερηχογράφους, η καταστροφή του όγκου μπορεί να πραγματοποιηθεί μη επεμβατικά. Επιπλέον, η υγροποίηση του όγκου εξαλείφει την ανάγκη εκτομής του όγκου, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο επιπλοκών που σχετίζονται με τη χειρουργική επέμβαση, όπως η θρόμβωση (Xu et al. 2021).

Η δυνατότητα εφαρμογής της ιστοθριψίας για την εκτομή όγκων σε όργανα πλούσια σε αέρα, όπως ο πνεύμονας και ο γαστρεντερικός σωλήνας, είναι περιορισμένη λόγω των εξαιρετικά χαμηλών ορίων σπηλαίωσης σε αυτούς τους ιστούς, τα οποία θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε σημαντικές επιπτώσεις εκτός στόχου (Xu et al. 2021). Επιπλέον, η εφαρμογή της ιστοθριψίας σε περιοχές που περικλείονται από οστά είναι περιορισμένη (Xu et al. 2021).

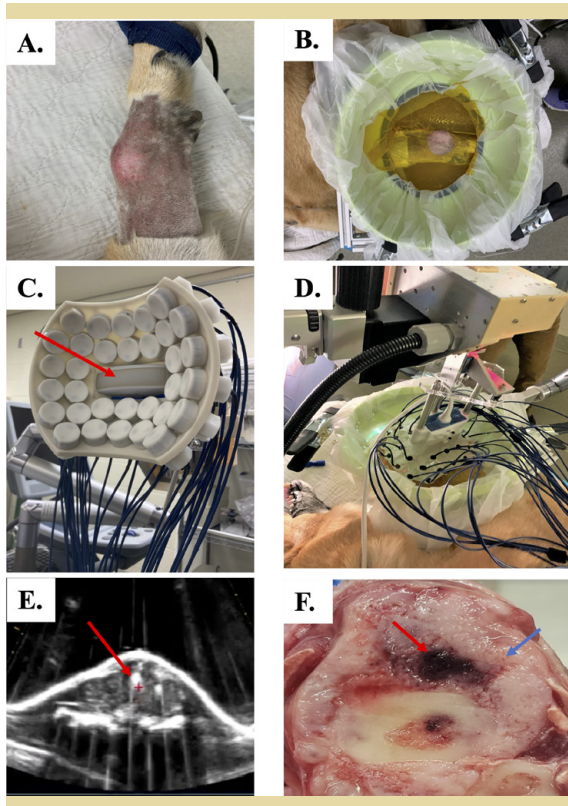
Λόγω της καινοτομίας της τεχνολογίας ιστοθρι-

Irreversible Electroporation (IRE) and High-Frequency Irreversible Electroporation (H-FIRE)

During irreversible electroporation (IRE), cells are exposed to monopolar pulsed electric fields that elevate the transmembrane potential of target cells, destabilize the cell membrane, and induce nonthermal cell death (Davalos et al. 2005). Electric fields are generated and pulsed through target tissues between two needle electrodes inserted into tumors. The second generation of IRE, high-frequency irreversible electroporation (H-FIRE), delivers high-frequency, bipolar pulsed electric fields to induce sharply demarcated regions of nonthermal ablation. Compared to IRE, H-FIRE allows for simpler procedures as it does not require the need for neuromuscular blockade or cardiac synchronization, and reduces the number of electrodes needed for treatment (Arena et al. 2011).

The nonthermal mechanisms of IRE and H-FIRE permit ablation near heat-sensitive structures, and for preservation of nerves and blood vessels enabled by careful placement of needle electrodes. IRE and H-FIRE tumor ablation is also minimally invasive, and has been shown to elicit anti-tumor adaptive immune response (Ringel-Scaia et al. 2019). Additionally, H-FIRE preferentially ablates neoplastic cells while sparing healthy cells at the tumor margin, allowing for precise tumor ablation (Ivey et al. 2015). However, the insertion and removal of needle electrodes into a tumor poses risk of neoplastic cell seeding along the electrode tracks during IRE and H-FIRE tumor ablation.

IRE (Figure 5) and H-FIRE (Figure 6) have been employed in a number of small case studies for tumor ablation in spontaneous canine neoplasia. IRE has been used for the ablation of soft tissue sarcoma in one canine patient (Neal et al. 2011), and for the ablation of canine glioma both as a sole treatment modality (Rossmeisler et al. 2015) and with adjuvant radiotherapy (Garcia et al. 2011). When IRE was employed for the ablation of a periarticular histiocytic sarcoma of the hindlimb, clinical signs of lameness improved, but tumor relapse occurred. The dog received a CCNU chemotherapy regimen and was re-treated with IRE to address focal relapse four months post-treatment presumably due to CCNU resistance, and total tumor remission was achieved (Neal et al. 2011). The dog survived for an additional 5 years post treatment and was euthanized due to unrelated causes. This study



Σχήμα 3. Εγκατάσταση θεραπείας με ιστοθριψία και θεραπεία οστεοσαρκώματος σκύλου. Α) Πρωτοπαθές οστεοσάρκωμα στην άπω κερκίδα ενός ασθενούς σκύλου. Το τρίχωμα που κάλυπτε το δέρμα πάνω από τον όγκο αφαιρέθηκε για την προετοιμασία της θεραπείας με ιστοθριψία. Β) Δοχείο σύζευξης για τη θεραπεία με ιστοθριψία γεμάτο με απαερωμένο νερό που τοποθετείται πάνω από τον όγκο. Γ) Εστιακός υπερηχογράφος ιστοθριψίας 500kHz, 32 στοιχείων με διαγνωστικό υπερηχογράφο (κόκκινο βέλος) ομοαξονικά ευθυγραμμισμένος για απεικόνιση σε πραγματικό χρόνο κατά τη διάρκεια της χορήγησης της θεραπείας. Δ) Ο εστιακός υπερηχογράφος και το δοχείο σύζευξης τοποθετημένα μαζί και έτοιμα για την παροχή θεραπείας. Ε) Σύννεφο φυσαλίδων σπηλαίωσης που δημιουργείται κατά τη διάρκεια της θεραπείας ιστοθριψίας (υποδεικνύεται από το κόκκινο βέλος). Φ) Μακροσκοπική εικόνα πρωτογενούς όγκου οστού που υποβλήθηκε σε θεραπεία, με το κόκκινο βέλος να υποδεικνύει τη θέση στόχευσης και το μπλε βέλος να υποδεικνύει τον μη στοχευμένο όγκο.

Figure 3. Histotripsy treatment setup and treatment of canine osteosarcoma. A) Primary appendicular osteosarcoma on the distal radius of a canine patient. Hair covering the skin over the tumor was removed in preparation for histotripsy treatment. B) Histotripsy treatment coupling bowl filled with degassed water placed over the tumor. C) 500kHz 32-element histotripsy transducer with ultrasound probe (red arrow) co-axially aligned for real-time imaging during treatment delivery. D) Transducer and treatment bowl positioned together and ready to deliver treatment. E) Cavitation bubble cloud generated during histotripsy treatment (indicated by red arrow). F) Gross pathology of treated primary bone tumor, with red arrow indicating treatment site, and blue arrow indicating untreated tumor.

ψίας για την κατάλυση όγκων, οι εφαρμογές της στην κτηνιατρική είναι περιορισμένες αλλά επιταχύνονται. Πιλοτικές μελέτες καταδεικνύουν την αποτελεσματικότητα της ιστοθριψίας στην εκτομή όγκων οστεοσαρκώματος σε σκύλους. (Arnold et al. 2021). Επιπλέον, στην πρώτη κλινική δοκιμή της ιστοθριψίας για μερική εκτομή οστεοσαρκώματος σε πέντε σκύλους, επιτεύχθηκε επιτυχής εκτομή εντός του όγκου-στόχου της θεραπείας, όπως προκύπτει από την παθολογία και την ιστολογία, χωρίς σημαντικές κλινικές ανεπιθύμητες ενέργειες. (Ruger et al. 2022b). Πρόσφατα, ολοκληρώθηκε μια πρώτη πιλοτική μελέτη για την αντιμετώπιση σαρκωμάτων μαλακών ιστών σε σκύλους, με την εφαρμογή της ίδιας τεχνολογίας, στην οποία αποδείχτηκαν οι αλλαγές που προκαλούνται στο μικροπεριβάλλον του όγκου, η ασφάλεια της μεθόδου και η σκοπιμότητα της χρήσης της (Ruger et al. 2022a). Αυτές οι μελέτες τεκμηρίωσαν την ασφάλεια και τη σκοπιμότητα της ιστοθριψίας για τη μη επεμβατική θεραπεία των πρωτοπαθών όγκων των οστών (Εικόνα 3) και των σαρκωμάτων των μαλακών μορίων (Εικόνα 4) σε σκύλους, αλλά απαιτούνται πρόσθετες εργασίες για την αξιολόγηση της μακροπρόθεσμης αποτελεσματικότητας και του οφέλους επιβίωσης. Επιπλέον κλινικές δο-

established the potential application of IRE for the treatment of primary neoplasms, as well as for the treatment of tumors refractory to other therapeutics. Garcia et al. later employed IRE with adjuvant fractionated radiotherapy for multimodal treatment of spontaneous canine glioma in one patient, resulting in a 75% reduction in tumor size 48 hours post-IRE and significant improvement in clinical signs in the weeks following IRE throughout the course of radiotherapy (Garcia et al. 2011). Complete remission was documented four months post-IRE, despite evidence of early-delayed radionecrosis eventually necessitating euthanasia 149 days post-IRE, with no evidence of tumor recurrence at necropsy. Taken together, it is possible that IRE treatment radiosensitized glioma in this patient, which warrants further investigation. In a later study of seven dogs with spontaneous glioma treated with IRE alone, severe post-treatment toxicity, including fatal aspiration pneumonia and treatment-associated cerebral edema, occurred in two dogs. However, clinical signs improved uniformly, with survival times up to 940 days post-IRE with a median survival time of 119 days

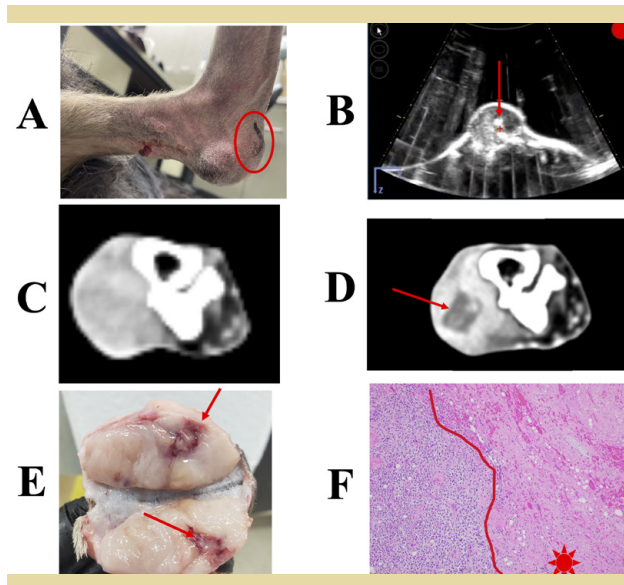
κιμές που βρίσκονται σε εξέλιξη συνεχίζουν να διερευνούν την ιστοθριψία για την κατάλυση όγκων του εγκεφάλου σε σκύλους και σαρκώματος μαλακών μορίων σε γάτες.

Μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση (IRE) και μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση υψηλής συχνότητας (H-FIRE)

Κατά τη διάρκεια της μη αναστρέψιμης ηλεκτροδιάτρησης (IRE), τα κύτταρα εκτίθενται σε μονοπολικά παλμικά ηλεκτρικά πεδία που αυξάνουν το διαμεμβρανικό δυναμικό των κυττάρων-στόχων, αποσταθεροποιούν την κυτταρική μεμβράνη και προκαλούν μη-θερμικό κυτταρικό θάνατο. (Davalos et al. 2005). Τα ηλεκτρικά πεδία δημιουργούνται και παλμοδοτούνται μέσω των ιστών-στόχων μεταξύ δύο ηλεκτροδίων βελόνας που εισάγονται στους όγκους. Η δεύτερη γενιά της IRE, η μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση υψηλής συχνότητας (H-FIRE), παρέχει υψηλής συχνότητας, διπολικά παλμικά ηλεκτρικά πεδία για την πρόκληση οριοθετημένων περιοχών μη-θερμικής κατάλυσης. Σε σύγκριση με την IRE, η H-FIRE επιτρέπει απλούστερες κλινικές διαδικασίες, καθώς δεν απαιτεί την ανάγκη νευρομυϊκού αποκλεισμού ή καρδιακού συγχρονισμού, και μειώνει τον αριθμό των ηλεκτροδίων που απαιτούνται για τη θεραπεία. (Arena et al. 2011).

Οι μη-θερμικοί μηχανισμοί της IRE και του H-FIRE επιτρέπουν την κατάλυση κοντά σε θερμοευαίσθητες δομές και για τη διατήρηση της λειτουργίας των νεύρων και των αιμοφόρων αγγείων που επιτρέπει η προσεκτική τοποθέτηση των ηλεκτροδίων της βελόνας. Η κατάλυση των όγκων με IRE και H-FIRE είναι επίσης ελάχιστα επεμβατική και έχειδειχθεί ότι προκαλεί προσαρμοστική ανοσολογική απόκριση κατά του όγκου (Ringel-Scaia et al. 2019). Επιπλέον, η H-FIRE καταλύει κατά προτίμηση τα νεοπλασματικά κύτταρα, σε σχέση με τα υγιή κύτταρα στο περιθώριο του όγκου, επιτρέποντας την ακριβή αφαίρεση του όγκου. (Ivey et al. 2015). Ωστόσο, η εισαγωγή και η αφαίρεση ηλεκτροδίων βελόνας σε έναν όγκο ενέχει τον κίνδυνο σποράς νεοπλασματικών κυττάρων κατά μήκος των διαδρομών των ηλεκτροδίων κατά τη διάρκεια της κατάλυσης με IRE και H-FIRE.

Η IRE (Εικόνα 5) και η H-FIRE (Εικόνα 6) έχουν χρησιμοποιηθεί σε συγκεκριμένες μικρές μελέτες περιστατικών για την αντιμετώπιση όγκων σε σκύλους. Η IRE έχει χρησιμοποιηθεί για την κατάλυση σαρκώματος μαλακών μορίων σε έναν σκύλο (Neal et al. 2011), και για την κατάλυση γλοιώματος σκύλου ως μοναδική μέθοδος θεραπείας (Rossmeisl et al. 2015) και με επικουρική ακτινοθεραπεία (Garcia et al. 2011). Όταν η IRE χρησιμοποιήθηκε

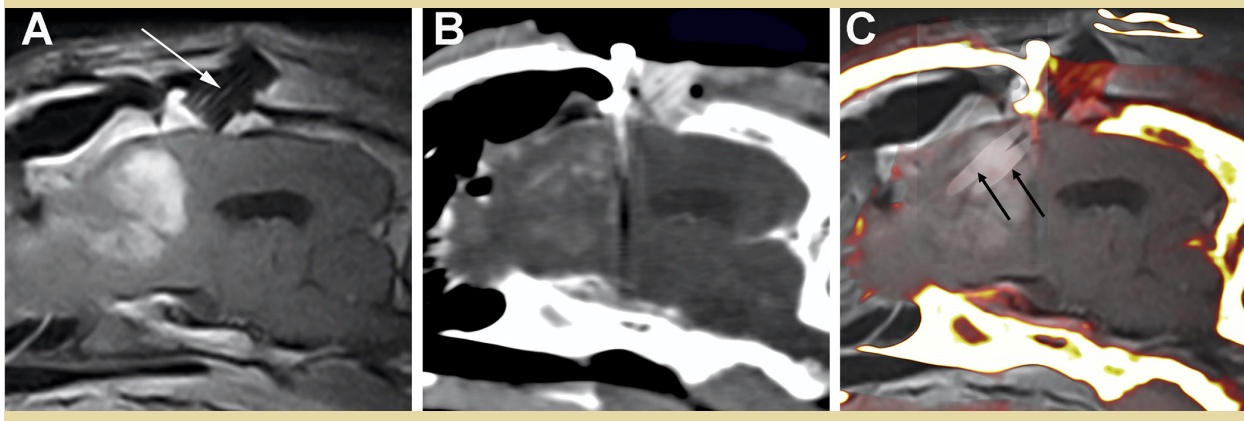


Σχήμα 4. Μηχανική, υψηλής έντασης εστιασμένη με υπερήχους κατάλυση σαρκώματος μαλακών μορίων σκύλου με ιστοθριψία. Α) Σάρκωμα μαλακών μορίων στην πελματιαία πτυχή του αριστερού μεταταρσίου, υποδηλώνοντας το σημείο θεραπείας (κυκλωμένο). Β) Ζωντανή εικόνα κατά τη διάρκεια της θεραπείας με ιστοθριψία που απεικονίζει το νέφος φυσαλίδων σπηλαιώσης εντός του όγκου (βέλος). Γ) Εικόνες αξονικής τομογραφίας ενισχυμένες με σκιαγραφικό πριν από τη θεραπεία και Δ) 1 ημέρα μετά τη θεραπεία με ιστοθριψία που δηλώνει την έλλειψη ενίσχυσης σκιαγραφικού στη ζώνη εκτομής (βέλος). Ε) Μακροσκοπική εικόνα που δηλώνει αιμορραγία (βέλος) και F) ιστοπαθολογική εικόνα που δηλώνει πλήρη απώλεια της βιωσιμότητας των κυττάρων εντός μιας ευκρινώς οριοθετημένης ζώνης εκτομής (αστέρι).

Figure 4. Mechanical, high-intensity focused ultrasound ablation of a canine soft tissue sarcoma with histotripsy. A) Soft tissue sarcoma on the plantar aspect of the left metatarsal, denoting the treatment site (circled). B) Live image of histotripsy treatment illustrating the cavitation bubble cloud within the tumor (arrow). C) Contrast-enhanced CT images before treatment and D) 1 day post-treatment with histotripsy denoting the lack of contrast enhancement in the ablation zone (arrow). E) Gross image denoting hemorrhage (arrow), and F) histopathology image denoting complete loss of cell viability within a sharply-demarcated ablation zone (star).

(Rossmeisl et al. 2015).

Procedural limitations and treatment-related complications of IRE tumor ablation in veterinary medicine prompted the development of H-FIRE, which has been investigated for the ablation of spontaneous canine meningioma and hepatocellular carcinoma. In a study of H-FIRE ablation of spontaneous meningioma in three dogs, Latouche et al. performed H-FIRE without intra- or postoperative complication in two of three dogs, with resection-associated hemorrhage and hypotension occurring in one dog (Latouche et al. 2018). Uniform necrotic ablations were achieved in two of three dogs, but nonuniform treatment occurred in one dog, likely due to intratumoral



Σχήμα 5. Στερεοτακτική, απεικονιστικά καθοδηγούμενη κατάλυση γλιώματος υψηλού βαθμού κακοήθειας σε σκύλο με μη αναστρέψιμη ηλεκτροδιάτρηση (IRE). Παρασβελιαία, μετα-σκιαγραφικού μαγνητική τομογραφία T1W (A) και διεγχειρητική μετα-σκιαγραφικού αξονική τομογραφία (B) που απεικονίζουν τον ενισχυόμενο όγκο στον μετωπιαίο λοβό με τον ειδικό καθετήρα και τον οδηγό αυτού (PGP) που έχει εμφυτευθεί στο υπερκείμενο μετωπιαίο οστό (βέλος, A). Συγχώνευση εικόνων μαγνητικής τομογραφίας και διεγχειρητικής αξονικής τομογραφίας (C) που καταδεικνύει την in situ τοποθέτηση δύο ηλεκτροδίων (μαύρα βέλη) που χρησιμοποιούνται για την κατάλυση μέσω του PGP στον όγκο.

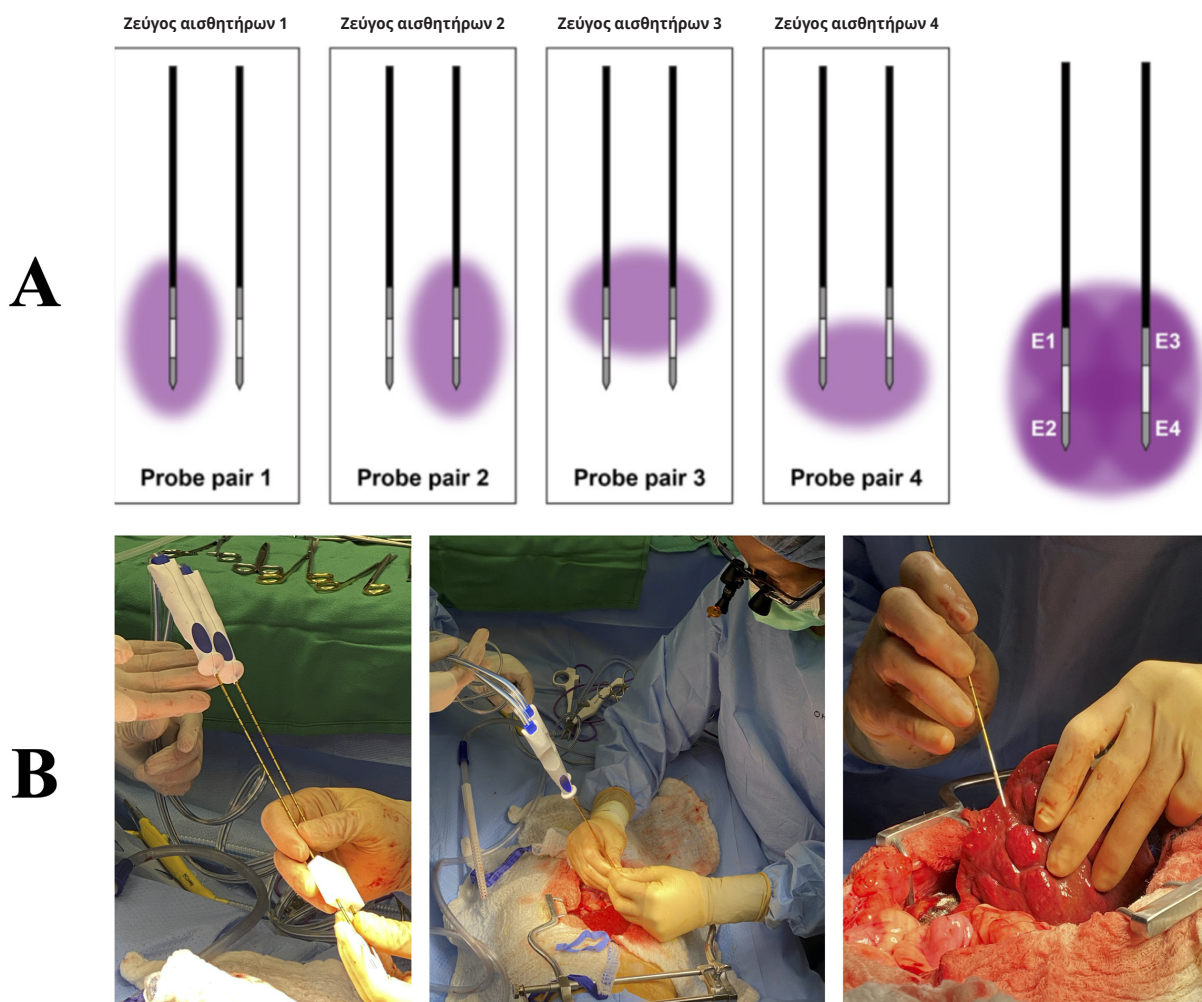
Figure 5. Stereotactic, image-guided ablation of a canine high-grade glioma with irreversible electroporation (IRE). Parasagittal, post-contrast T1W MRI (A) and intraoperative post-contrast CT (B) illustrating the enhancing tumor in the frontal lobe with probe guide pedestal (PGP) implanted in the overlying frontal bone (arrow, A). Fusion of MRI and intraoperative CT images (C) demonstrating in situ placement of two electrodes (black arrows) used for ablation through the PGP into the tumor.

για την εκτομή ενός περιαρθρικού ιστιοκυτταρικού σαρκώματος του οπίσθιου άκρου, τα κλινικά συμπτώματα χωλότητας βελτιώθηκαν, αλλά σημειώθηκε υποτροπή του όγκου. Ο σκύλος έλαβε χημειοθεραπευτική αγωγή με CCNU και υποβλήθηκε εκ νέου σε θεραπεία με IRE για την αντιμετώπιση εστιακής υποτροπής τέσσερις μήνες μετά τη θεραπεία, πιθανώς λόγω αντοχής στην CCNU, και επιτεύχθηκε ολική ύφεση του όγκου. (Neal et al. 2011). Ο σκύλος επέζησε για επιπλέον 5 χρόνια μετά τη θεραπεία και υποβλήθηκε σε ευθανασία λόγω άσχετων αιτιών. Αυτή η μελέτη καθιέρωσε τη δυνητική εφαρμογή της IRE για τη θεραπεία πρωτοπαθών νεοπλασιών, καθώς και για τη θεραπεία όγκων ανθεκτικών σε άλλες θεραπευτικές αγωγές. Οι Garcia et al. χρησιμοποίησαν αργότερα την IRE με επικουρική κλασματοποιημένη ακτινοθεραπεία για την πολυτροπική θεραπεία γλιώματος σκύλου σε έναν ασθενή, με αποτέλεσμα τη μείωση του μεγέθους του όγκου κατά 75% 48 ώρες μετά την IRE και τη σημαντική βελτίωση των κλινικών συμπτωμάτων τις εβδομάδες μετά την IRE καθ' όλη τη διάρκεια της ακτινοθεραπείας (Garcia et al. 2011). Η πλήρης ύφεση τεκμηριώθηκε τέσσερις μήνες μετά την IRE, παρά τα στοιχεία της πρώιμης-καθυστερημένης ακτινονέκρωσης, που τελικά κατέστησε αναγκαία την ευθανασία 149 ημέρες μετά την IRE, χωρίς ενδείξεις υποτροπής του όγκου κατά τη νε-

mineralization. One dog remained tumor-free six months post-treatment, and tumor recurrence was suspected in another dog five months post-H-FIRE (Latouche et al. 2018). This study established safety and clinical feasibility of the intracranial H-FIRE procedure, but due to the treat-and-resect nature of this study, additional work is needed in order to evaluate long-term efficacy of H-FIRE in inducing tumor remission for dogs diagnosed with meningioma. In a later study of H-FIRE for the ablation of hepatocellular carcinoma in three dogs, Partridge et al. demonstrated well-defined percutaneous ablation in two out of three patients, with mild muscle contraction and no cardiac arrhythmia, and without clinically significant treatment-related adverse events (Partridge et al. 2020). Infiltration of CD3+ lymphocytes was observed in reactive zones surrounding treated tumor volumes, suggesting the induction of a pro-inflammatory immune response after H-FIRE ablation of hepatocellular carcinoma. Two of three dogs were still alive more than twelve months after treat-and-resect H-FIRE treatment, with no evidence of tumor recurrence or metastasis (Partridge et al. 2020). Additional work is needed in order to evaluate the survival benefit and long-term antitumor

κροψία. Συνολικά, είναι πιθανό ότι η θεραπεία IRE ακτινοευαισθητοποίησε το γλοίωμα σε αυτόν τον ασθενή, γεγονός που δικαιολογεί περαιτέρω διερεύνηση. Σε μια μεταγενέστερη μελέτη επτά σκύλων με γλοίωμα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία μόνο με IRE, εμφανίστηκε σοβαρή τοξικότητα μετά τη θεραπεία, συμπεριλαμβανομένης θανατηφόρας πνευμονίας από εισρόφηση και εγκεφαλικού οιδήματος που σχετιζόταν με τη θεραπεία, σε δύο

effects of H-FIRE in the ablation of spontaneous canine hepatocellular carcinoma without tumor resection, but this study established safety and feasibility of the procedure with promising clinical results. Investigations of the use of H-FIRE for the treatment of primary lung tumors in dogs are ongoing.



Σχήμα 6. Χρήση μη αναστρέψιμης ηλεκτροδιάτρησης υψηλής συχνότητας (H-FIRE) για την κατάλυση όγκων μαλακών μοριών σε σκύλους. Α) Συνδυασμοί παλμικών ακολουθιών ανάμεσα σε δύο διπολικά ηλεκτρόδια H-FIRE μπορούν να επιτύχουν μια χωρικά μεγαλύτερη, συγκλίνουσα ζώνη κατάλυσης ιστού. Β) Παράλληλα, διπολικά ηλεκτρόδια H-FIRE που συγκρατούνται με προκαθορισμένη απόσταση μεταξύ τους μέσω τρισδιάστατα εκτυπωμένου οδηγού (αριστερά) εισάγονται σε πρωτοπαθή όγκο του ήπατος, χρησιμοποιώντας χειρουργική διαδικασία ανοικτής προσέγγισης (μέση). Εισαγωγή ενός μόνο διπολικού ηλεκτροδίου για στοχευμένη κατάλυση πολλαπλών όζων στην επιφάνεια του ήπατος (δεξιά).

Figure 6. Use of high-frequency irreversible electroporation (H-FIRE) for ablation of canine soft tissue tumors. A) Combinations of pulsing sequences across two bipolar H-FIRE electrodes can achieve a spatially larger, convergent tissue ablation zone. B) Parallel, bipolar H-FIRE probes held with predetermined distance between them via 3D-printed guide (left) are inserted into a primary liver tumor, using an open approach surgical procedure (middle). Insertion of a single bipolar electrode for targeted ablation of multiple nodules at the surface of the liver (right).

σκύλους. Ωστόσο, τα κλινικά συμπτώματα βελτιώθηκαν ομοιόμορφα, με χρόνους επιβίωσης έως και 940 ημέρες μετά την IRE με διάμεσο χρόνο επιβίωσης 119 ημέρες. (Rossmeisl et al. 2015).

Οι διαδικαστικοί περιορισμοί και οι επιπλοκές που σχετίζονται με τη θεραπεία της κατάλυσης όγκων με IRE στην κτηνιατρική οδήγησαν στην ανάπτυξη της H-FIRE, η οποία έχει διερευνηθεί για την κατάλυση του μηνιγγιώματος και του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σκύλων. Σε μια μελέτη της κατάλυσης με H-FIRE αυθόρμητου μηνιγγιώματος σε τρεις σκύλους, οι Latouche και συν. πραγματοποίησαν H-FIRE χωρίς διεγχειρητική ή μετεγχειρητική επιπλοκή σε δύο από τους τρεις σκύλους, και με αιμορραγία και υπόταση που σχετίζονταν με την χειρουργική εκτομή σε έναν σκύλο. (Latouche et al. 2018). Ομοιόμορφες νεκρωτικές καταλυσεις επιτεύχθηκαν σε δύο από τους τρεις σκύλους, αλλά μη ομοιόμορφη θεραπεία εμφανίστηκε σε έναν σκύλο, πιθανώς λόγω ανοργανοποίησης του εσωτερικού του όγκου. Ένας σκύλος παρέμεινε ελεύθερος όγκου έξι μήνες μετά τη θεραπεία, ενώ υπήρχε υποψία υποτροπής του όγκου σε έναν άλλο σκύλο πέντε μήνες μετά την H-FIRE. (Latouche et al. 2018). Αυτή η μελέτη καθιέρωσε την ασφάλεια και την κλινική σκοπιμότητα της ενδοκρανιακής διαδικασίας H-FIRE, αλλά λόγω της θεραπευτικής φύσης αυτής της μελέτης, απαιτούνται πρόσθετες εργασίες προκειμένου να αξιολογηθεί η μακροπρόθεσμη αποτελεσματικότητα του H-FIRE στην πρόκληση ύφεσης του όγκου σε σκύλους που έχουν διαγνωστεί με μηνιγγίωμα. Σε μια μεταγενέστερη μελέτη του H-FIRE για την κατάλυση ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σε τρεις σκύλους, οι Partridge και συν. κατέδειξαν καλά καθορισμένη διαδερμική κατάλυση σε δύο από τους τρεις ασθενείς, με ήπια μυϊκή συστολή και χωρίς καρδιακή αρρυθμία, και χωρίς κλινικά σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες που σχετίζονται με τη θεραπεία. (Partridge et al. 2020). Παρατηρήθηκε διήθηση CD3+ λεμφοκυττάρων στις αντιδραστικές ζώνες που περιβάλλουν τους στοχευμένους όγκους που υποβλήθηκαν σε θεραπεία, γεγονός που υποδηλώνει την επαγωγή μιας προφλεγμονώδους ανοσολογικής απόκρισης μετά την κατάλυση H-FIRE του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος. Δύο από τους τρεις σκύλους εξακολουθούσαν να ζουν περισσότερο από δώδεκα μήνες μετά τη θεραπεία με H-FIRE, χωρίς ενδείξεις υποτροπής ή μετάστασης του όγκου. (Partridge et al. 2020). Απαιτούνται πρόσθετες μελέτες προκειμένου να εκτιμηθεί το όφελος επιβίωσης και τα μακροπρόθεσμα αντικαρκινικά αποτελέσματα της H-FIRE στην αντιμετώπιση του αυθόρμητου ηπατοκυτταρικού καρκινώματος σκύλων χωρίς χειρουργική εκτομή του όγκου, αλλά η παρούσα

Conclusions

Energy-based tumor ablation warrants further investigation in veterinary medicine, as it demonstrates particular promise in offering both curative and palliative treatment to companion animals with cancer. Energy-based ablation has the potential to offer outpatient, minimally- or non-invasive, precise, and customizable antineoplastic therapy, while limiting morbidity associated with standard treatment modalities. The widespread use of energy-based tumor ablation therapeutics in veterinary medicine is in its early stages, largely due to technical expertise needed and cost of new instrumentation systems. With further investigation, both thermal and nonthermal energy-based tumor ablation modalities can be optimized and applied as sole therapeutics or as adjuvants to standard treatment modalities for the treatment of diverse tumor types in veterinary oncology.

Conflicts of Interest

Drs Dervisis, Rossmeisl, and Davalos have issued patents and/or patents pending in the area of irreversible electroporation. Drs Dervisis and Davalos are serving as scientific advisors with ManaMedTech LLC. Dr. Vlaisavljevich has a financial interest and ongoing research partnership with HistoSonics Inc.

Acknowledgements

We would like to extend a heartfelt thanks to all of the dedicated clients/pet parents and their primary care veterinarians for actively seeking to enroll their animals in the various clinical trials summarized in this manuscript. Without them, there can be no advances in the field of veterinary cancer medicine.

μελέτη καθιέρωσε την ασφάλεια και τη σκοπιμότητα της διαδικασίας με πολλά υποσχόμενα κλινικά αποτελέσματα. Οι έρευνες για τη χρήση του H-FIRE για τη θεραπεία πρωτοπαθών όγκων του πνεύμονα σε σκύλους βρίσκονται σε εξέλιξη.

Συμπεράσματα

Η ενεργειακή κατάλυση όγκων χρήζει περαιτέρω διερεύνησης στην κτηνιατρική, καθώς υπόσχεται ιδιαίτερα να προσφέρει τόσο θεραπευτική όσο και παρηγορητική θεραπεία σε ζώα συντροφιάς με καρκίνο. Η κατάλυση με βάση την ενέργεια έχει τη δυνατότητα να προσφέρει εξωνοσοκομειακή, ελάχιστα ή μη επεμβατική, και προσαρμοσμένη αντινεοπλασματική θεραπεία, περιορίζοντας παράλληλα τη νοσηρότητα που σχετίζεται με τις συνήθεις μεθόδους θεραπείας ακριβείας. Η ευρεία χρήση θεραπευτικών μεθόδων κατάλυσης όγκων με βάση την ενέργεια στην κτηνιατρική βρίσκεται σε πρώιμο στάδιο, κυρίως λόγω της απαιτούμενης τεχνικής εμπειρογνωμοσύνης και του κόστους των νέων συστημάτων. Με περαιτέρω διερεύνηση, τόσο οι θερμικές όσο και οι μη θερμικές μέθοδοι κατάλυσης όγκων με βάση την ενέργεια μπορούν να βελτιστοποιηθούν και να εφαρμοστούν ως μοναδικές θεραπευτικές αγωγές ή ως βοηθητικά μέσα στις συνήθεις θεραπευτικές μεθόδους για τη θεραπεία διαφόρων τύπων όγκων στην κτηνιατρική ογκολογία.

Συγκρούσεις συμφερόντων

Οι Drs Dervisis, Rossmeis, και Davalos έχουν καθιερώσει πατέντα ή/και εκκρεμούν πατέντες ευρεσιτεχνίας στον τομέα της μη αναστρέψιμης ηλεκτροδιάτρησης. Οι Drs Dervisis και Davalos υπηρετούν ως επιστημονικοί σύμβουλοι στην ManaMedTech LLC. Ο Dr. Vlasislavjevich έχει οικονομικό συμφέρον και συνεχιζόμενη ερευνητική συνεργασία με την HistoSonics Inc.

Ευχαριστίες

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά όλους τους αφοσιωμένους πελάτες/γονείς κατοικίδιων ζώων και τους κτηνιάτρους πρωτοβάθμιας φροντίδας τους για την ενεργό προσπάθεια να εγγράψουν τα ζώα τους στις διάφορες κλινικές δοκιμές που συνοψίζονται σε αυτό το χειρόγραφο. Χωρίς αυτούς, δεν μπορεί να υπάρξει καμία πρόοδος στον τομέα της κτηνιατρικής αντικαρκινικής ιατρικής.



**Υπεύθυνη αλληλογραφίας
Corresponding author:**

Kelsey Murphy
krmurphy96@vt.edu

Βιβλιογραφία / References

- Abdoon AS, Al-Ashkar EA, Kandil OM, Shaban AM, Khaled HM, El Sayed MA, El Shaer MM, Shaalan AH, Eisa WH, Eldin AA, Hussein HA, El Ashkar MR, Ali MR, Shabaka AA (2016) Efficacy and toxicity of plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanorods (GNRs) against mammary tumors in dogs and cats. *Nanomedicine* 12, 2291-2297.
- Ali MR, Ibrahim IM, Ali HR, Selim SA, El-Sayed MA (2016) Treatment of natural mammary gland tumors in canines and felines using gold nanorods-assisted plasmonic photothermal therapy to induce tumor apoptosis. *Int J Nanomedicine* 11, 4849-4863.
- Andreano A, Brace CL (2013) A comparison of direct heating during radiofrequency and microwave ablation in ex vivo liver. *Cardiovasc Intervent Radiol* 36, 505-11.
- Antoniou A, Evripidou N, Panayiotou S, Spanoudes K, Damianou C (2022) Treatment of canine and feline sarcoma using MR-guided focused ultrasound system. *J Ultrasound*.
- Arena CB, Sano MB, RossmeisI JH Jr., Caldwell JL, Garcia PA, Rylander MN, Davalos RV (2011) High-frequency irreversible electroporation (H-FIRE) for non-thermal ablation without muscle contraction. *Biomed Eng Online* 10, 102.
- Arnold L, Hendricks-Wenger A, Coutermarsh-Ott S, Gannon J, Hay AN, Dervisis N, Klahn S, Allen IC, Tuohy J, Vlaisavljevich E (2021) Histotripsy Ablation of Bone Tumors: Feasibility Study in Excised Canine Osteosarcoma Tumors. *Ultrasound Med Biol* 47, 3435-3446.
- Bader KB, Vlaisavljevich E, Maxwell AD (2019) For Whom the Bubble Grows: Physical Principles of Bubble Nucleation and Dynamics in Histotripsy Ultrasound Therapy. *Ultrasound Med Biol* 45, 1056-1080.
- Bottero E, Cagnasso A, Gianella P (2016) Diode laser ablation of a tracheal osteochondroma in a dog. *J Small Anim Pract* 57, 382-5.
- Carroll J, Coutermarsh-Ott S, Klahn SL, Tuohy J, Barry SL, Allen IC, Hay AN, Ruth J, Dervisis N (2022) High intensity focused ultrasound for the treatment of solid tumors: a pilot study in canine cancer patients. *Int J Hyperthermia* 39, 855-864.
- Cerf DJ, Lindquist EC (2012) Palliative ultrasound-guided endoscopic diode laser ablation of transitional cell carcinomas of the lower urinary tract in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 240, 51-60.
- Culp W, Johnson E, Palm C. Use of thermal ablation techniques in the treatment of canine urogenital neoplasia. In: *Proceedings of Veterinary Interventional Radiology and Interventional Endoscopy Society Meeting 2017*, Cabo San Lucas, Mexico, p. 6.
- Davalos RV, Mir IL, Rubinsky B (2005) Tissue ablation with irreversible electroporation. *Ann Biomed Eng* 33, 223-31.
- Dornbusch JA, Wavreille VA, Dent B, Fuerst JA, Green EM, Selmic LE (2020) Percutaneous microwave ablation of solitary presumptive pulmonary metastases in two dogs with appendicular osteosarcoma. *Vet Surg* 49, 1174-1182.
- Erinjeri JP, Clark TW (2010) Cryoablation: mechanism of action and devices. *J Vasc Interv Radiol* 21, 187-91.
- Garcia PA, Pancotto T, RossmeisI JH, Jr., Henao-Guerrero N, Gustafson NR, Daniel GB, Robertson JL, Ellis TL, Davalos RV (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.
- Gomez Ochoa P, Alferez MD, 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 (Basel)* 11.
- Hinshaw JL, Lubner MG, Ziemlewicz TJ, Lee FT, Jr., Brace CL (2014) Percutaneous tumor ablation tools: microwave, radiofrequency, or cryoablation-what should you use and why? *Radiographics* 34, 1344-62.
- Hong K, Georgiades C (2010) Radiofrequency ablation: mechanism of action and devices. *J Vasc Interv Radiol* 21, S179-86.
- Ierace MK, Canfield MS, Peters-Kennedy J, Kane CW (2018) Combined carbon dioxide laser and cryosurgical ablation of rostral nasal septum squamous cell carcinoma in 10 dogs. *Vet Dermatol* 29, 431-e142.
- Ivey JW, Latouche EL, Sano MB, RossmeisI JH, Davalos RV, Verbridge SS (2015) Targeted cellular ablation based on the morphology of malignant cells. *Sci Rep* 5, 17157.
- Knavel EM, Brace CL (2013) Tumor ablation: common modalities and general practices. *Tech Vasc Interv Radiol* 16, 192-200.
- Kopelman D, Inbar Y, Hanannel A, Dank G, Freundlich D, Perel A, Castel D, Greenfeld A, Salomon T, Sareli M, Valeanu A, Papa M (2006) Magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery (MRgFUS). Four ablation treatments of a single canine hepatocellular adenoma. *HPB (Oxford)* 8, 292-8.
- Latouche EL, Arena CB, Ivey JW, Garcia PA, Pancotto TE, Pavlisko N, Verbridge SS, Davalos RV, RossmeisI JH (2018). High-Frequency Irreversible Electroporation for Intracranial Meningioma: A Feasibility Study in a Spontaneous Canine Tumor Model. *Technol Cancer Res Treat* 17, 1533033818785285.
- Ma J, Yu X, Lv J, Lin D, Lin J, Bai Y, Wang Y, Li X, Dong J (2021) Cryotherapy mediates histopathological and microstructural changes during the treatment of skin and subcutaneous tumors in dogs. *Cryobiology* 98, 164-171.
- Mallery KF, Pollard RE, Nelson RW, Hornof WJ, Feldman EC (2003) Percutaneous ultrasound-guided radiofrequency heat ablation for treatment of hyperthyroidism in cats. *J Am Vet Med Assoc* 223, 1602-7.
- Maxwell AD, Cain CA, Hall TL, Fowlkes JB, Xu Z (2013) Probability of cavitation for single ultrasound pulses applied to tissues and tissue-mimicking materials. *Ultrasound Med Biol* 39, 449-65.
- Mazzaccari K, Boston SE, Toskich BB, Bowles K, Case JB (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, 1161-1165.
- Murphy SM, Lawrence JA, Schmiedt CW, Davis KW, Lee FT, Jr.,

- Forrest LJ, Bjorling DE (2011) Image-guided transnasal cryoablation of a recurrent nasal adenocarcinoma in a dog. *J Small Anim Pract* 52, 329-33.
- Neal RE, 2nd, Rossmeis JH, Jr., Garcia PA, Lanz OI, Henao-Guerrero N, Davalos RV (2011) Successful treatment of a large soft tissue sarcoma with irreversible electroporation. *J Clin Oncol* 29, e372-7.
 - Oramas A, Case JB, Toskich BB, Fox-Alvarez WA, Boston SE, Giglio RF, Dark MJ (2019) Laparoscopic access to the liver and application of laparoscopic microwave ablation in 2 dogs with liver neoplasia. *Vet Surg* 48, 91-98.
 - Paczuska J, Kielbowicz Z, Nowak M, Antonczyk A, Ciaputa R, Nicpon J (2014) The carbon dioxide laser: an alternative surgery technique for the treatment of common cutaneous tumors in dogs. *Acta Vet Scand* 56, 1.
 - Partridge BR, O'Brien TJ, Lorenzo MF, Coutermarsh-Ott SL, Barry SL, Stadler K, Muro N, Meyerhoeffer M, Allen IC, Davalos RV, Dervisis NG (2020) High-Frequency Irreversible Electroporation for Treatment of Primary Liver Cancer: A Proof-of-Principle Study in Canine Hepatocellular Carcinoma. *J Vasc Interv Radiol* 31, 482-491 e4.
 - Pollard RE, Long CD, Nelson RW, Hornof WJ, Feldman EC (2001) Percutaneous ultrasonographically guided radiofrequency heat ablation for treatment of primary hyperparathyroidism in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 218, 1106-10.
 - Ranjan A, Kishore D, Ashar H, Neel T, Singh A, More S (2021) Focused ultrasound ablation of a large canine oral tumor achieves efficient tumor remission: a case report. *Int J Hyperthermia* 38, 552-560.
 - Rhim H, Dodd GD, 3rd, Chintapalli KN, Wood BJ, Dupuy DE, Hvizda JL, Sewell PE, Goldberg SN (2004) Radiofrequency thermal ablation of abdominal tumors: lessons learned from complications. *Radiographics* 24, 41-52.
 - Ringel-Scaia VM, Beitel-White N, Lorenzo MF, Brock RM, Huie KE, Coutermarsh-Ott S, Eden K, McDaniel DK, Verbridge SS, Rossmeis JH, Jr., Oestreich KJ, Davalos RV, Allen IC (2019) High-frequency irreversible electroporation is an effective tumor ablation strategy that induces immunologic cell death and promotes systemic anti-tumor immunity. *EBioMedicine* 44, 112-125.
 - Rossmeis JH, Jr., Garcia PA, Pancotto TE, Robertson JL, Henao-Guerrero N, Neal RE, 2nd, Ellis TL, Davalos RV (2015) Safety and feasibility of the NanoKnife system for irreversible electroporation ablative treatment of canine spontaneous intracranial gliomas. *J Neurosurg* 123, 1008-25.
 - Ruger L, Yang E, Gannon J, Sheppard H, Coutermarsh-Ott S, Ziemlewicz TJ, Dervisis N, Allen IC, Daniel GB, Tuohy J, Vlasisavljevic E, Klahn S (2022a) Mechanical High-Intensity Focused Ultrasound (Histotripsy) in Dogs with Spontaneously Occurring Soft Tissue Sarcomas. *IEEE Trans Biomed Eng PP*.
 - Ruger LN, Hay AN, Gannon JM, Sheppard HO, Coutermarsh-Ott SL, Daniel GB, Kierski KR, Ciepluch BJ, Vlasisavljevic E, Tuohy JL (2022b) Histotripsy Ablation of Spontaneously Occurring Canine Bone Tumors In Vivo. *IEEE Trans Biomed Eng PP*.
 - Ryu MO, Lee SH, Ahn JO, Song WJ, Li Q, Youn HY (2018) Treatment of solid tumors in dogs using veterinary high-intensity focused ultrasound: A retrospective clinical study. *Vet J* 234, 126-129.
 - Salyer SA, Wavreille VA, Fenger JM, Jennings RN, Selmic LE (2020). Evaluation of microwave ablation for local treatment of dogs with distal radial osteosarcoma: A pilot study. *Vet Surg* 49, 1396-1405.
 - Seward MC, Daniel GB, Ruth JD, Dervisis N, Partanen A, Yarmolenko PS (2019) Feasibility of targeting canine soft tissue sarcoma with MR-guided high-intensity focused ultrasound. *Int J Hyperthermia* 35, 205-215.
 - Shipov A, Kelmer G, Lavy E, Milgram J, Aroch I, Segev G (2015) Long-term outcome of transendoscopic oesophageal mass ablation in dogs with *Spirocercia lupi*-associated oesophageal sarcoma. *Vet Rec* 177, 365.
 - Ter Haar G (2016) HIFU Tissue Ablation: Concept and Devices. *Adv Exp Med Biol* 880, 3-20.
 - Vascellari M, Baioni E, Ru G, Carminato A, Mutinelli F (2009) Animal tumour registry of two provinces in northern Italy: incidence of spontaneous tumours in dogs and cats. *BMC Vet Res* 5, 39.
 - Vlasisavljevic E, Greve J, Cheng X, Ives K, Shi J, Jin L, Arvidson A, Hall T, Welling TH, Owens G, Roberts W, Xu Z (2016a) Non-Invasive Ultrasound Liver Ablation Using Histotripsy: Chronic Study in an In Vivo Rodent Model. *Ultrasound Med Biol* 42, 1890-902.
 - Vlasisavljevic E, Kim Y, Owens G, Roberts W, Cain C, Xu Z (2014) Effects of tissue mechanical properties on susceptibility to histotripsy-induced tissue damage. *Phys Med Biol* 59, 253-70.
 - Vlasisavljevic E, Maxwell A, Mancina L, Johnsen E, Cain C, Xu Z (2016b) Visualizing the Histotripsy Process: Bubble Cloud-Cancer Cell Interactions in a Tissue-Mimicking Environment. *Ultrasound Med Biol* 42, 2466-77.
 - Weisse C, Berent A, Solomon S. Combined transarterial embolization, systemic cyclophosphamide, and cryotherapy ablation for "Hi-Lo" maxillary fibrosarcoma in a dog. In: *Proceedings of the 8th Annual Meeting, Veterinary Endoscopy Society 2011, San Pedro, Belize*.
 - Xu W, Zhang X, Hu X, Zhiyi C, Huang P (2019) Translational Prospects of ultrasound-mediated tumor immunotherapy: Preclinical advances and safety considerations. *Cancer Lett* 460, 86-95.
 - Xu Z, Hall TL, Vlasisavljevic E, Lee FT, Jr. (2021) Histotripsy: the first noninvasive, non-ionizing, non-thermal ablation technique based on ultrasound. *Int J Hyperthermia* 38, 561-575.
 - Yang T, Case JB, Boston S, Dark MJ, Toskich B (2017) Microwave ablation for treatment of hepatic neoplasia in five dogs. *J Am Vet Med Assoc* 250, 79-85.
 - Yas E, Kelmer G, Shipov A, Ben-Oz J, Segev G (2013) Successful transendoscopic oesophageal mass ablation in two dogs with *Spirocercia lupi* associated oesophageal sarcoma. *J Small Anim Pract* 54, 495-8.