



REVISIÓN

Electroporación irreversible: presente y futuro en el tratamiento del carcinoma hepatocelular

Irreversible electroporation: present and future in the treatment of hepatocellular carcinoma

David Cano¹, Juan José Lasarte², Isabel Vivas¹

RESUMEN

Entre los tratamientos actuales para el carcinoma hepatocelular se encuentra un grupo de técnicas de ablación mínimamente invasivas con gran aceptación clínica por su mayor eficacia y seguridad respecto a las terapias tradicionales, bajo coste económico y aplicación ambulatoria.

La electroporación irreversible es una técnica de ablación no térmica que crea nanoporos en la membrana celular mediante administración de campos eléctricos, induciendo la muerte de las células tumorales. Aunque la electroporación irreversible presenta resultados prometedores en numerosos ensayos clínicos, su control a largo plazo del crecimiento y de las recidivas tumorales es inferior al de la radiofrecuencia. La combinación de electroporación irreversible con agentes inmunológicos podría aumentar su eficacia tanto en el tratamiento de lesiones focales como de metástasis. Esta revisión realiza una actualización sobre la electroporación irreversible: procedimiento, mecanismo de acción, aplicación como tratamiento del carcinoma hepatocelular y alternativas de mejora que están aflorando en los últimos años.

Palabras clave. Carcinoma hepatocelular. Electroporación. Agentes inmunológicos.

ABSTRACT

Currently, among the possible treatments for hepatocellular carcinoma there is group of minimally invasive ablation techniques with wide clinical acceptance due to their greater efficacy and safety in comparison to traditional therapies, low cost, and no need of being admitted to hospital (outpatient treatment program).

Irreversible electroporation is a non-thermal ablation technique in which electrical fields are used to create nanopores in the cell membrane that induce tumor cell death. Irreversible electroporation has shown promising results in numerous clinical trials; however, its control on long-term tumor growth and recurrence is inferior in comparison to that of radiofrequency. Combining irreversible electroporation with immunological agents may increase its efficacy in the treatment of focal lesions and metastases. In this work, we present an update on IRE including procedure, mechanism of action, application as a treatment for HCC, and the improvements that have been made in the past few years.

Keywords. Hepatocellular carcinoma. Electroporation. Immunologic agents.

1. Departamento de Radiología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. España.
2. Programa de Inmunología e Inmunoterapia. Centro de Investigación Médica Aplicada. Pamplona. España.

Recibido: 03/11/2021 • Revisado: 26/01/2022 • Aceptado: 17/08/2022

Correspondencia:

Isabel Vivas [isvivasp@unav.es]

Citación:

Cano D, Lasarte JJ, Vivas I. Electroporación irreversible: presente y futuro en el tratamiento del carcinoma hepatocelular. An Sist Sanit Navar 2022; 45(3): e1019. <https://doi.org/10.23938/ASSN.1019>



INTRODUCCIÓN

El carcinoma hepatocelular (CHC) ha sido en el año 2020 la sexta neoplasia con mayor incidencia mundial y la tercera en mortalidad, con 906.000 nuevos casos y 830.000 fallecimientos, según la Organización Mundial de la Salud. La incidencia del CHC en los últimos 30 años se ha triplicado en EEUU debido al aumento de prevalencia de la obesidad y de la cirrosis secundaria a esta^{1,2}. A pesar de haber aumentado el porcentaje de CHC detectados en fases tempranas, la mayoría de los pacientes son diagnosticados en estadios avanzados no curables, con una supervivencia del 47% al primer año^{3,4}. En 2019 se diagnosticaron en España 6.499 nuevos casos de CHC y las muertes causadas por este tumor se elevaron a 5.192 personas, según la Sociedad Española de Oncología Médica⁵.

La creciente incidencia del CHC ha promovido el desarrollo de diferentes opciones terapéuticas ablativas mínimamente invasivas que van cobrando una especial relevancia en la práctica clínica como complemento o alternativa a la cirugía. En este escenario es importante el conocimiento de las indicaciones de cada una de ellas de cara a personalizar el tratamiento en cada paciente.

Entre los nuevos tratamientos se encuentra la electroporación irreversible, una técnica de ablación tumoral no térmica que, mediante la formación de nanoporos en la bicapa lipídica de la membrana de las células tumorales, conduce a la apoptosis. La eficacia terapéutica de la electroporación irreversible radica principalmente en su acción ablativa, limitándose a tumores de un tamaño reducido y a un número de lesiones determinado. Sin embargo, los resultados de la electroporación irreversible podrían mejorarse a través de una combinación sinérgica con tratamientos de inmunoterapia que induzcan una respuesta inmunitaria antitumoral que actúe a nivel sistémico, más allá de la lesión tratada.

Este estudio proporciona una actualización de las opciones terapéuticas disponibles para el tratamiento del CHC en función de su estadio, destacando el papel de la electroporación irreversible y sus combinaciones.

ESTADIAJE Y TRATAMIENTO DEL CARCINOMA HEPATOCELULAR

La clasificación *Barcelona Clinic Liver Cancer* (BCLC) es la más utilizada para estadiar el CHC⁶.

Distribuye los pacientes tomando en cuenta la carga tumoral (número de lesiones, diámetro máximo, presencia de invasión vascular y existencia de metástasis), el grado de alteración de la función hepática, y la sintomatología clínica de los mismos. En función del estadio se asigna un tratamiento que puede ser curativo en pacientes en fase muy precoz y precoz (BCLC 0 y A) o no curativo o paliativo en pacientes en estadios más avanzados (BCLC B, C y D).

Tradicionalmente, la resección hepática y el trasplante de hígado han sido considerados tratamientos curativos en el CHC. Sin embargo, solo los pacientes en estadio BCLC 0 o A, menos del 40% de los pacientes diagnosticados, son candidatos al tratamiento quirúrgico. Además, estos pacientes presentan una alta tasa de recidiva de la enfermedad después de la cirugía^{7,8}. La quimioembolización transarterial (TACE), los tratamientos de ablación (radiofrecuencia, ablación por microondas, crioablación, etc.), la radioembolización o la radioterapia estereotáxica se consideran posibles tratamientos locales eficaces en pacientes con cirrosis y CHC de menos de 3 cm de diámetro⁹⁻¹¹.

A estas modalidades terapéuticas hay que sumar los tratamientos sistémicos, indicados en pacientes con CHC en un estadio avanzado de la enfermedad (BCLC C) como los inhibidores de la tirosín-quinasa (Sorafenib o Lenvatinib), los anticuerpos monoclonales anti-PD-1 o anti-PD-L1 (Atezolizumab, Nivolumab o Pembrolizumab) o anti-VEGF (Bevacizumab)^{3,12-14} (Tabla 1). Estos tratamientos están adquiriendo gran protagonismo en el tratamiento del CHC y pueden ser administrados en monoterapia o como tratamientos combinados. En la actualidad, la combinación de Atezolizumab y Bevacizumab es ya el tratamiento de elección en pacientes con un estadio avanzado del CHC (BCLC C) al haber demostrado una mayor eficacia, sin aumentar los efectos adversos, respecto a Sorafenib^{13,14}.

A pesar del amplio abanico de posibilidades terapéuticas, un porcentaje muy significativo de pacientes no responde adecuadamente a estos tratamientos, siendo necesarias nuevas opciones terapéuticas para detener la progresión del CHC. Recientemente una nueva técnica de ablación, la electroporación irreversible (IRE), está surgiendo como una alternativa a los tratamientos ablativos multimodales para el CHC¹⁵.

Tabla 1. Alternativas terapéuticas del carcinoma hepatocelular en los diferentes estadios de la enfermedad

Tratamiento del carcinoma hepatocelular
Curativo para BCLC 0/A (muy precoz y precoz)*
Resección quirúrgica
Trasplante hepático
Local para cirrosis + lesiones <3 cm
TACE
Radioembolización
Radioterapia estereotáxica
Ablación
Fenolización
Radiofrecuencia
Microondas
Crioblación
Electroporación
Sistémico para BCLC C (avanzado)
Inhibidores de la tirosínquinasa
Sorafenib
Lenvatinib
Anticuerpos monoclonales anti PD-1 / PD-L1
Atezolizumab
Nivolumab
Pembrolizumab
Anticuerpos monoclonales anti VEGF
Bevacizumab

BCLC: clasificación *Barcelona Clinic Liver Cancer*; *: <40% de los pacientes diagnosticados de hepatocarcinoma; TACE: quimioembolización transarterial.

La IRE, aprobada por la FDA desde 2008, es principalmente una técnica de ablación tumoral, no térmica, que se ha utilizado en el tratamiento de distintos tumores (partes blandas, próstata, páncreas, metástasis y tumores primarios hepáticos, etc.¹⁶. Utiliza corriente eléctrica continua para generar pulsos de alto voltaje y de muy corta duración, que son aplicados en la lesión por medio de varias agujas en cuyo extremo hay un electrodo. El campo eléctrico generado provoca la formación de nanoporos en la bicapa lipídica de la membrana de las células tumorales. Estos nanoporos son permanentes o irreversibles cuando la intensidad del campo eléctrico excede los 650 V/cm. Como consecuencia, la membrana celular pierde la función de mantenimiento del medio interno, lo que provoca la apoptosis celular. Los restos celulares generados serán eliminados por el sistema inmune del paciente¹⁷⁻²¹.

El único sistema de IRE aprobado tanto por la FDA como por la Unión Europea para su uso clínico es el *Nanoknife IRE system*, distribuido por AngioDynamics (Latham, NY). Se compone de un generador, agujas monopolares y un sistema de sincronización con el latido cardíaco del paciente²².

La realización de la IRE requiere anestesia general, bloqueo neuromuscular para evitar contracciones durante el procedimiento y monitorización cardíaca para la detección de arritmias. La emisión de los pulsos debe estar sincronizada con el ritmo cardíaco para que estos se produzcan en la fase de repolarización (segmento ST). El abordaje suele ser percutáneo, guiado por ecografía o tomografía computarizada (TC), pero también se puede realizar de forma intraoperatoria²³⁻²⁷.

Las complicaciones en relación a la punción son escasas, ya que el sangrado en el punto de colocación de las agujas cede con la compresión local. En la bibliografía solo se ha descrito una serie con siembra tumoral en el trayecto de inserción de la aguja²⁸. Entre las complicaciones descritas derivadas del tratamiento se encuentran las arritmias supraventriculares, el derrame pleural leve, el neumotórax y el hemotórax de escasa cuantía o la estenosis de ramas biliares distales o la trombosis de ramas portales intrahepáticas de pequeño calibre. La mayoría de estas complicaciones se resuelven de forma espontánea en 24 - 48 horas, sin requerir un tratamiento específico. Entre las complicaciones graves destacan el fallo hepático secundario, que ocurre en pacientes que ya tienen una leve insuficiencia hepática previa al procedimiento, o la formación de abscesos que pueden requerir tratamiento antibiótico o la realización de un drenaje percutáneo²⁹.

Electroporación irreversible en estadios BCLC 0 y A del carcinoma hepatocelular

Los tratamientos ablativos tumorales se han utilizado ampliamente como tratamiento curativo en pacientes con CHC de pequeño tamaño que no son candidatos al tratamiento quirúrgico (resección o trasplante)³⁰. La ablación tumoral se puede realizar de forma química (fenolización) o térmica (radiofrecuencia, microondas o crioblación), y el resultado es la muerte celular tumoral. Normalmente se realizan percutáneamente guiados con ecografía o TC, aunque también se pueden realizar durante la

cirugía³¹. Los tratamientos ablativos más utilizados en el tratamiento del CHC en la práctica clínica son la radiofrecuencia (RFA) y las microondas. Ambas técnicas generan calor provocando la necrosis coagulativa de las células tumorales, tienen una tasa de complicaciones similar y no muestran diferencias significativas en su eficacia, independientemente del tamaño del tumor³². La EASL (*European Association for the Study of Liver*) incluyó la RFA en su guía de clínica práctica de 2018 como tratamiento de primera línea en pacientes con CHC en un estadio muy precoz (BCLC 0)³³.

Sin embargo, se ha descrito una eficacia limitada de estos tratamientos ablativos térmicos en lesiones de gran tamaño o lesiones cercanas a vasos de gran calibre debido a la disipación del calor que impide alcanzar la temperatura necesaria para generar la necrosis tumoral (*heat-sink effect*) o en aquellas cercanas a estructuras importantes que se puedan lesionar como la vía biliar, vesícula, colon o diafragma^{14,34}.

Eficacia de la IRE en el tratamiento del carcinoma hepatocelular en estadios precoces

La eficacia de la IRE en el tratamiento del CHC, comparada con la RFA, presenta una cierta variabilidad en algunos de los estudios publicados. Esto puede deberse a que las series clínicas incluyen pocos pacientes, a la heterogeneidad de las lesiones tratadas, a que su complicada localización anatómica en el hígado impide el uso de otras técnicas de ablación, a las características propias de los pacientes tratados, y a la ausencia de ensayos clínicos aleatorizados que comparen la IRE con la RFA o microondas. Además, conseguir colocar correctamente las agujas en la lesión para alcanzar una ablación efectiva de la lesión requiere de un aprendizaje que algunos autores han cifrado en cinco procedimientos³⁵⁻³⁷.

Cheung y col describieron, en una serie 18 CHC tratados con IRE en 2013, una respuesta completa a los dos meses del 100% en tumores de ≤ 2 cm y del 92% en tumores de ≤ 3 cm³⁸. La serie publicada por Sutter y col³⁹ incluía 58 pacientes y 75 CHC tratados con IRE, cuyo tamaño medio era de 2,4 cm. Doce meses después, el 70% de los CHC tratados no habían recidivado, lo que se correlacionaba con los niveles previos de α -fetoproteína. Estos resultados son superponibles a las series publicadas por

Niessen y col (34 pacientes tratados con IRE; 15 padecían CHC, con un diámetro tumoral medio de 2,4 cm y con una supervivencia global a 12 meses del 75%)⁴⁰ o Padia y col (20 pacientes con CHC tratados con IRE, con un diámetro tumoral medio de 2,0 cm)⁴¹.

La serie de 23 pacientes y 33 CHC publicada recientemente por Freeman y col⁴² demuestra que los tumores menores de 2 cm fueron los que mejor respuesta presentan, sin evidencia de recidiva en el 100% de las lesiones tras una mediana de seguimiento de 106,5 meses. Sin embargo, en los CHC de tamaño superior a 2 cm, la mediana de tiempo libre de enfermedad en la lesión era de 34,5 meses, con un 74% de los pacientes sin signos de recidiva a los 12 meses. El 88% del total de CHC tratados tenían una respuesta completa en la TC realizada al mes del tratamiento. A diferencia del estudio de Sutter y col³⁹, el nivel de α -fetoproteína previo a la IRE no era predictor de respuesta. Estos resultados son similares a los publicados en otros dos estudios en 2019^{43,44}. Freeman y col, en otra serie publicada en 2021, compararon la supervivencia de pacientes con CHC tratados con IRE (25 tumores) y con RFA (96 tumores). Los tamaños medios de las lesiones tratadas eran semejantes (20 mm en el grupo IRE y 17 mm en el RFA). Hubo 10 recidivas locales en el grupo IRE (40%) y 27 en el RFA (28%), diferencia estadísticamente no significativa. El tiempo libre de recidiva local tampoco mostró diferencias significativas entre IRE y RFA a uno (80,4 vs 84,8%), dos (69,1 vs 71,3%) y cinco años (44,9 vs 52,1%)⁴⁵. Sin embargo, estos resultados hay que valorarlos con cautela debido al reducido tamaño muestral de la serie de pacientes tratados con IRE y a que, inicialmente, los pacientes incluidos en esta cohorte partían de una clasificación Child Pugh y una puntuación MELD (*Model for End Stage Liver Disease*) más favorable.

Una nueva indicación para el tratamiento con IRE en pacientes con CHC, ya descrita para RFA y microondas⁴⁶, es la publicada en 2019 por Cannon y col⁴⁷: como tratamiento puente que permita un posterior trasplante hepático. Su serie incluyó cinco pacientes de alto riesgo debido a una función hepática terminal y con CHC localizados cerca de grandes vasos hepáticos (vena cava intrahepática, porta derecha o venas suprahepáticas). Todos fueron tratados con IRE antes del trasplante. La supervivencia a los 12 meses fue del 80%, ya que un paciente falleció debido a complicaciones derivadas del trasplante. El

estudio anatomopatológico de los hígados descartó invasión vascular y el grado de necrosis de los CHC tratados con IRE variaba entre el 30 y el 100%.

Electroporación irreversible en el carcinoma hepatocelular avanzado. Estado actual

Únicamente el 30% de los pacientes diagnosticados de CHC serán candidatos a un tratamiento curativo (quirúrgico o ablativo), aunque las recidivas locales o la aparición de metástasis en estos pacientes son frecuentes. Los pacientes con CHC en estadios intermedios o avanzados (BCLC B o C) son candidatos a tratamientos paliativos locales (como TACE o radioembolización) o sistémicos (Sorafenib, Atelolizumab + Bevacizumab, entre otros), con un efecto limitado en la supervivencia^{3,4,12}.

Los tratamientos ablativos generan una gran cantidad de restos celulares. Se ha sugerido que estos podrían ser una fuente de antígenos tumorales junto con los patrones moleculares asociados a daño (DAMPs), moléculas inmunoestimuladoras que también se producen en los tratamientos ablativos para generar una respuesta inmunitaria antitumoral local y sistémica. Esta respuesta inmunitaria permitiría la eliminación de focos residuales de tumor en la lesión tratada y, principalmente, actuar sobre las lesiones metastásicas. Tanto la RFA como el tratamiento con microondas producen una respuesta inmunitaria muy débil probablemente debida a que el calor generado durante estos procedimientos provoca la desnaturalización de las proteínas antigénicas del tumor, impidiendo su reconocimiento y la posterior activación del sistema inmune⁴⁸⁻⁵¹.

La IRE, al no ser un tratamiento térmico, daña exclusivamente la membrana de la célula tumoral, permitiendo la liberación de gran cantidad de neoantígenos tumorales susceptibles de ser reconocidos por el sistema inmunitario. Además, los vasos sanguíneos, los linfáticos y la matriz extracelular no se ven afectados, lo que facilita la infiltración local por células del sistema inmunitario⁵².

Estudios recientes han demostrado, en pacientes con carcinoma de páncreas o de próstata y tras el tratamiento con IRE, el aumento de los niveles de linfocitos T citotóxicos (Tc) y una mayor respuesta a los tratamientos sistémicos inmunoterápicos con anti PD-1 o anti CTL-4⁵³⁻⁵⁵.

Diversos ensayos preclínicos y clínicos en pacientes con CHC han demostrado que el tratamien-

to con IRE también provoca la activación del sistema inmunitario con una elevación de los niveles de citoquinas (interleuquinas, factor de necrosis tumoral e interferones) localmente y en sangre periférica. También se ha demostrado una mayor presencia local de macrófagos, linfocitos Tc activados por interferón γ y o de células dendríticas presentadoras de antígenos. Como consecuencia de la acción de las citoquinas y de la mayor presencia de antígenos tumorales generados por la IRE, el microambiente tumoral inmunosupresor basal se modifica hacia un ambiente antitumoral, disminuyendo los linfocitos T reguladores y la expresión de PD-1, que son los encargados de la inactivación y el agotamiento de los linfocitos Tc⁵⁶⁻⁵⁸.

Electroporación irreversible en combinación con agentes inmunomoduladores: una alternativa de futuro

La posibilidad de poder generar una respuesta inmunitaria sistémica antitumoral frente al CHC ha llevado a iniciar ensayos en los que se combina la IRE con tratamientos de inmunoterapia o adyuvantes inmunitarios, administrados sistémica o localmente, con el objetivo de fortalecer la respuesta inmunitaria local iniciada por la IRE y alcanzar una respuesta inmunitaria antitumoral sistémica. Alnaggar y col⁵⁹ publicaron un ensayo clínico realizado en pacientes con CHC avanzado; 20 pacientes fueron tratados con IRE y otros 20 recibieron un tratamiento combinado de IRE junto con la posterior infusión de células natural killer alogénicas previamente cultivadas y activadas frente a CHC. El tratamiento combinado aumentó la supervivencia de forma significativa en estos pacientes (10,1 vs 8,9 meses; $p < 0,01$), con una disminución significativa en el tamaño de las lesiones a los tres meses de los tratamientos (2,3 vs 2,7 cm; $p < 0,05$). Otro estudio posterior obtuvo conclusiones similares, con respuesta tumoral más significativa en los pacientes tratados con IRE + NK respecto a los que únicamente recibieron IRE (89 vs 68%; $p < 0,01$)⁶⁰.

Un reciente estudio realizado en ratones con CHC comparó los grupos de ratones que habían recibido tratamiento de inmunoterapia sistémica, de IRE, o bien de IRE + inmunoterapia sistémica, con un grupo control⁶¹. Los ratones tratados con IRE e IRE + inmunoterapia presentaban una mayor necrosis de las lesiones, tanto las tratadas como las no tratadas,

respecto a los grupos control o solo inmunoterapia. El grupo de ratones que recibió el tratamiento combinado presentaba, tanto en las lesiones tratadas como en las no tratadas, una disminución en el número de neutrófilos y macrófagos asociados al tumor y, en el estudio del infiltrado inflamatorio peritumoral, un número de linfocitos CD8 en el tumor y en el tejido peritumoral significativamente mayor que en los grupos control o solo inmunoterapia.

En la actualidad se está proponiendo la posibilidad de que la combinación de un tratamiento local junto con un tratamiento inmunoterápico pueda ser efectivo tanto en el tratamiento del CHC como de las metástasis hepáticas del carcinoma de colon^{62,63}.

Nuestro grupo, con la intención de potenciar el efecto sobre el sistema inmunitario producido por la IRE, realizó dos estudios con animales en los que se realizaba la inyección intratumoral de adyuvantes inmunológicos simultáneamente al tratamiento de IRE. Aunque el mecanismo de acción de los dos adyuvantes era diferente, en ambos estudios se observó una supervivencia significativamente mayor en los animales que recibieron el tratamiento combinado respecto al resto de grupos. En el estudio que utilizó el adyuvante poly-ICLC se observó la respuesta completa del tumor tratado y de las metástasis en dos de los cinco conejos del grupo combinado debido a la generación de una respuesta inmunitaria sistémica que eliminó las metástasis no tratadas (efecto abscopal). El estudio que utilizó el agonista STING obtuvo una supervivencia significativamente superior en el grupo de ratones que habían recibido el tratamiento combinado de IRE + el agonista STING, observándose una respuesta completa en más del 60% de los casos y un aumento significativo de la infiltración intratumoral por linfocitos CD8⁺ y células NK⁶⁵.

CONCLUSIÓN

La IRE podría considerarse el tratamiento de elección para los pacientes con CHC en estadios BCLC 0 o A localizados en zonas en las que los tratamientos ablativos térmicos no son eficaces o están contraindicados, especialmente en la ablación de tumores adyacentes a vasos sanguíneos grandes y conductos biliares porque causan menos daño a estas estructuras que los métodos de ablación térmica. La seguridad y eficacia de la IRE es, en las

series publicadas, similar a la RFA y al tratamiento de microondas aunque, debido a la heterogeneidad de estas series, son necesarios ensayos clínicos aleatorizados para poder compararlas adecuadamente. Los resultados de ensayos realizados en laboratorio y con animales, publicados hasta la fecha, en los que se combina IRE con tratamientos inmunoterápicos para potenciar la activación del sistema inmunitario iniciada con la IRE, son un posible camino para conseguir un tratamiento eficaz en pacientes con CHC avanzado, siendo necesarios ensayos clínicos que los confirmen.

La IRE es una técnica compleja y de elevado coste, que requiere de una previa programación que adapte el procedimiento a la anatomía particular de cada paciente. Sin embargo, la posibilidad de aumentar de forma significativa su eficacia a través de la combinación con agentes inmunomoduladores reclama un mayor protagonismo de la IRE en el tratamiento del CHC.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Financiación

Los autores declaran no haber recibido financiación externa para la realización de este estudio.

Agradecimientos

No aplica.

Contribución de autores

Conceptualización: JJJ, IVP
 Curación de datos: IVP, DCR
 Análisis formal: JJJ, IVP
 Adquisición de fondos: JJJ, IVP
 Investigación: JJJ, IVP, DCR
 Metodología: JJJ, IVP, DCR
 Administración del proyecto: JJJ, IVP
 Recursos: JJJ, IVP
 Software: IVP, DCR
 Supervisión: JJJ, IVP
 Validación: IVP, DCR
 Visualización: IVP, DCR
 Redacción – borrador original: IVP, DCR
 Redacción – revisión y edición: JJJ, IVP, DCR

Disponibilidad de datos

No aplica.

BIBLIOGRAFÍA

1. MARENGO A, ROSSO C, BUGIANESI E. Liver cancer: connections with obesity, fatty liver, and cirrhosis. *Annu Rev Med* 2016; 67: 103-117. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-090514-013832>
2. ALTEKRUSE SF, MCGLYNN KA, REICHMAN ME. Hepatocellular carcinoma incidence, mortality, and survival trends in the United States from 1975 to 2005. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1485-1491. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.20.7753>
3. LLOVET JM, RICCI S, MAZZAFERRO V, HILGARD P, GANE E, BLANC JF et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359: 378-390. <https://doi.org/10.1056/nejmoa0708857>
4. FORNER A, REIG M, BRUIX J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2018; 391: 1301-1314. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30010-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30010-2)
5. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España 2019. Madrid: SEOM, 2019. https://seom.org/images/SEOM_cifras_cancer_2019.pdf
6. LLOVET JM, BRÚ C, BRUIX J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: The BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 329-337. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-090514-013832>
7. LLOVET JM, SCHWARTZ M, MAZZAFERRO V. Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2005; 25: 181-200. <https://doi.org/10.1055/s-2005-871198>
8. SCHWARTZ M, ROAYAIE S, KONSTADOUAKIS M. Strategies for the management of hepatocellular carcinoma. *Nat Clin Pract Oncol* 2007; 4: 424-432. <https://doi.org/10.1038/ncponc0844>
9. RYAN MJ. Ablation techniques for primary and metastatic liver tumors. *World J Hepatol* 2016; 8: 191. <https://doi.org/10.4254/wjh.v8.i3.191>
10. SANGRO B. Chemoembolization and radioembolization. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2014; 28: 909-919. <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2014.08.009>
11. WAHL DR, STENMARK MH, TAO Y, POLLOM EL, CAOILI EM, LAWRENCE TS et al. Outcomes after stereotactic body radiotherapy or radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2016; 34: 452-459. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.61.4925>
12. FINN RS, QIN S, IKEDA M, GALLE PR, DUCREUX M, KIM TY et al. Atezolizumab plus Bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2020; 382: 1894-1905. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1915745>
13. GALLE PR, FINN RS, QIN S, IKEDA M, ZHU AX, KIM TY et al. Patient-reported outcomes with atezolizumab plus bevacizumab versus sorafenib in patients with unresectable hepatocellular carcinoma (IMbrave150): an open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2021; 22: 991-1001. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00151-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00151-0)
14. FERRANTE ND, PILLAI A, SINGAL AG. Update on the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Hepatol (NY)* 2020; 16: 506-516. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34017223>
15. BHUTIANI N, PHILIPS P, SCOGGINS CR, MCMASTERS KM, POTTS MH, MARTIN RCG. Evaluation of tolerability and efficacy of irreversible electroporation (IRE) in treatment of Child-Pugh B (7/8) hepatocellular carcinoma (HCC). *HPB (Oxford)* 2016; 18: 593-599. <https://doi.org/10.1016/j.hpb.2016.03.609>
16. MOIR J, WHITE SA, FRENCH JJ, LITTLER P, MANAS DM. Systematic review of irreversible electroporation in the treatment of advanced pancreatic cancer. *Eur J Surg Oncol* 2014; 40: 1598-1604. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2014.08.480>
17. DAVALOS RV, MIR ILM, RUBINSKY B. Tissue ablation with irreversible electroporation. *Ann Biomed Eng* 2005; 33: 223-231. <https://doi.org/10.1007/s10439-005-8981-8>
18. WAGSTAFF PG, BUIJS M, VAN DEN BOS W, DE BRUIN DM, ZONDERVAN PJ, DE LA ROSETTE JJ et al. Irreversible electroporation: state of the art. *Onco Targets Ther* 2016; 9: 2437-2446. <https://doi.org/10.2147/OTT.S88086>
19. PAVŠELJ N, PRÉAT V, MIKLAVČIČ D. A numerical model of skin electropermeabilization based on in vivo experiments. *Ann Biomed Eng* 2007; 35: 2138-2144. <https://doi.org/10.1007/s10439-007-9378-7>
20. MILLER L, LEOR J, RUBINSKY B. Cancer cells ablation with irreversible electroporation. *Technol Cancer Res Treat* 2005; 4: 699-705. <https://doi.org/10.1177/153303460500400615>
21. KIS E, BALTÁS E, KINYÓ A, VARGA E, NAGY N, GYULAI R et al. Successful treatment of multiple basalomas with bleomycin-based electrochemotherapy: a case series of three patients with Gorlin-Goltz syndrome. *Acta Derm Venereol* 2012; 92: 648-651. <https://doi.org/10.2340/00015555-1361>
22. THOMSON KR, KAVNOUDIAS H, NEAL RE. Introduction to irreversible electroporation - principles and techniques. *Tech Vasc Interv Radiol* 2015; 18: 128-134. <https://doi.org/10.1053/j.tvir.2015.06.002>
23. NARAYANAN G. Irreversible electroporation. *Semin Intervent Radiol* 2015; 32: 349-355. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1564706>
24. HSIAO C-Y, HUANG KW. Irreversible electroporation: a novel ultrasound-guided modality for non-thermal tumor ablation. *J Med Ultrasound* 2017; 25: 195-200. <https://doi.org/10.1016/j.jmu.2017.08.003>
25. DOLLINGER M, BEYER LP, HAIMERL M, NIESSEN C, JUNG EM, ZEMAN F, STROSZCZYNSKI C et al. Adverse effects of irreversible electroporation of malignant liver tumors under CT fluoroscopic guidance: a single-center experience. *Diagnostic Interv Radiol* 2015; 21: 471-475. <https://doi.org/10.5152/dir.2015.14442>
26. BHATIA SS, ARYA R, NARAYANAN G. NICHE Applications of irreversible electroporation. *Tech Vasc Interv Radiol* 2015; 18: 170-175. <https://doi.org/10.1053/j.tvir.2015.06.008>

27. DEODHAR A, DICKFELD T, SINGLE GW, HAMILTON WC JR, THORNTON RH, SOFOCLEOUS CT et al. Irreversible electroporation near the heart: ventricular arrhythmias can be prevented with ECG synchronization. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: W330-W335. <https://doi.org/10.2214/AJR.10.4490>
28. DISTELMAIER M, BARABASCH A, HEIL P, KRAEMER NA, ISFORT P, KEIL S et al. Midterm Safety and efficacy of irreversible electroporation of malignant liver tumors located close to major portal or hepatic veins. *Radiology* 2017; 285: 1023-1031. <https://doi.org/10.1148/radiol.2017161561>
29. SCHEFFER HJ, NIELSEN K, DE JONG MC, VAN TILBORG AA, VIEVEEN JM, BOUWMAN AR et al. Irreversible electroporation for nonthermal tumor ablation in the clinical setting: a systematic review of safety and efficacy. *J Vasc Interv Radiol* 2014; 25: 997-1011. <https://doi.org/10.1016/j.jvir.2014.01.028>
30. BRUIX J, REIG M, SHERMAN M. Evidence-based diagnosis, staging, and treatment of patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2016; 150: 835-853. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.12.041>
31. VILLANUEVA A. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 380: 1450-1462. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1713263>
32. SPILLOTIS AE, GÁBELEIN G, HOLLÄNDER S, SCHERBER PR, GLANEMANN M, PATEL B. Microwave ablation compared with radiofrequency ablation for the treatment of liver cancer: a systematic review and meta-analysis. *Radiol Oncol* 2021; 55: 247-258. <https://doi.org/10.2478/raon-2021-0030>
33. GALLE PR, FORNER A, LLOVET JM, MAZZAFERRO M, PISCAGLIA F, RAOUL JL et al. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2018; 69: 182-236. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.019>
34. FONSECA AZ, SAAD WA, RIBEIRO JR. MA. Complications after radiofrequency ablation of 233 hepatic tumors. *Oncology* 2015; 89: 332-336. <https://doi.org/10.1159/000439089>
35. KINGHAM TP, KARKAR AM, D'ANGELICA MI, ALLEN PJ, DEMATTEO RP, GETRAJDMAN GI et al. Ablation of perivascular hepatic malignant tumors with irreversible electroporation. *J Am Coll Surg* 2012; 215: 379-387. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2012.04.029>
36. PHILIPS P, HAYS D, MARTIN RCG. Irreversible electroporation ablation (IRE) of unresectable soft tissue tumors: learning curve evaluation in the first 150 patients treated. *PLoS One* 2013; 8: e76260. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076260>
37. GUPTA P, MARALAKUNTE M, SAGAR S, KUMAR-M P, BHUJADE H, CHALUVASHETTY SB et al. Efficacy and safety of irreversible electroporation for malignant liver tumors: a systematic review and meta-analysis. *Eur Radiol* 2021; 31: 6511-6521. <https://doi.org/10.1007/s00330-021-07742-y>
38. CHEUNG W, KAVNOUDIAS H, ROBERTS S, SZKANDERA B, KEMP W, THOMSON KR. Irreversible electroporation for unresectable hepatocellular carcinoma: Initial experience and review of safety and outcomes. *Technol Cancer Res Treat* 2013; 12: 233-241. <https://doi.org/10.7785/tcrt.2012.500317>
39. SUTTER O, CALVO J, N'KONTCHOU G, NAULT JC, OURABIA R, NAHON P et al. Safety and efficacy of irreversible electroporation for the treatment of hepatocellular carcinoma not amenable to thermal ablation techniques: A retrospective single-center case series. *Radiology* 2017; 284: 877-886. <https://doi.org/10.1148/radiol.2017161413>
40. NIESSEN C, BEYER LP, PREGLER B, DOLLINGER M, TRABOLD B, SCHLITT HJ et al. Percutaneous ablation of hepatic tumors using irreversible electroporation: a prospective safety and midterm efficacy study in 34 patients. *J Vasc Interv Radiol* 2016; 27: 480-486. <https://doi.org/10.1016/j.jvir.2015.12.025>
41. PADIA SA, JOHNSON GE, YEUNG RS, PARK JO, HIPPE DS, KOGUT MJ. Irreversible electroporation in patients with hepatocellular carcinoma: immediate versus delayed findings at MR imaging. *Radiology* 2016; 278: 285-294. <https://doi.org/10.1148/radiol.2015150031>
42. FREEMAN E, CHEUNG W, KAVNOUDIAS H, MAJEED A, KEMP W, ROBERTS SK. Irreversible Electroporation for hepatocellular carcinoma: longer-term outcomes at a single centre. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2021; 44: 247-253. <https://doi.org/10.1007/s00270-020-02666-4>
43. MAFELD S, WONG JJ, KIBRIYA N, STENBERG B, MANAS D, BASSETT P et al. Percutaneous irreversible electroporation (IRE) of Hepatic malignancy: a bi-institutional analysis of safety and outcomes. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2019; 42: 577-583. <https://doi.org/10.1007/s00270-018-2120-z>
44. KALRA N, GUPTA P, GORSI U, BHUJADE H, CHALUVASHETTY SB, DUSEJA A et al. Irreversible electroporation for unresectable hepatocellular carcinoma: initial experience. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2019; 42: 584-590. <https://doi.org/10.1007/s00270-019-02164-2>
45. FREEMAN E, CHEUNG W, FERDOUSI S, KAVNOUDIAS H, MAJEED A, KEMP W et al. Irreversible electroporation versus radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: a single centre propensity-matched comparison. *Scand J Gastroenterol* 2021; 56: 942-947. doi: 10.1080/00365521.2021.1930145
46. GOMAA AI. Recent advances in multidisciplinary management of hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol* 2015; 7: 673. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i4.673>
47. CANNON RM, BOLUS DN, WHITE JA. Irreversible electroporation as a bridge to liver transplantation. *Am Surg* 2019; 85: 103-110. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30760354>
48. WISSNIOWSKI TT, HÄNSLER J, NEUREITER, FRIESER M, SCHABER S, ESSLINGER B et al. Activation of tumor-specific T lymphocytes by radio-frequency ablation of the VX2 hepatoma in rabbits. *Cancer Res* 2003; 63: 6496-6500.

49. WISSNIOWSKI TT, HÄNSLER J, NEUREITER D, FRIESER M, SCHABER S, ESSLINGER B et al. Enhancement of tumor-associated antigen-specific T cell responses by radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2013; 57: 1448-1457. <https://doi.org/10.1002/hep.26153>
50. ZHOU Y, XU X, DING J, JING X, WANG F, WANG Y, WANG P. Dynamic changes of T-cell subsets and their relation with tumor recurrence after microwave ablation in patients with hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Ther* 2018; 14: 40. https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_775_17
51. CHU KF, DUPUY DE. Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy. *Nat Rev Cancer* 2014; 14: 199-208. <https://doi.org/10.1038/nrc3672>
52. BULVIK BE, ROZENBLUM N, GOUREVICH S, AHMED M, ANDRIYANOV AV, GALUN E et al. Irreversible electroporation versus radiofrequency ablation: a comparison of local and systemic effects in a small-animal model. *Radiology* 2016; 280: 413-424. <https://doi.org/10.1148/radiol.2015151166>
53. ZHAO J, WEN X, TIAN L, LI T, XU C, WEN X et al. Irreversible electroporation reverses resistance to immune checkpoint blockade in pancreatic cancer. *Nat Commun* 2019; 10: 899. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08782-1>
54. HE C, SUN S, ZHANG Y, LI S. Irreversible Electroporation plus anti-PD-1 antibody versus irreversible electroporation alone for patients with locally advanced pancreatic cancer. *J Inflamm Res* 2021; 14: 4795-4807. <https://doi.org/10.2147/JIR.S331023>
55. BURBACH BJ, O'FLANAGAN SD, SHAO Q, YOUNG KM, SLAUGHTER JR, ROLLINS MR et al. Irreversible electroporation augments checkpoint immunotherapy in prostate cancer and promotes tumor antigen-specific tissue-resident memory CD8+ T cells. *Nat Commun* 2021; 12: 3862. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-24132-6>
56. CHEN X, REN Z, YIN S, XU Y, GUO D, XIE H et al. The local liver ablation with pulsed electric field stimulate systemic immune reaction against hepatocellular carcinoma (HCC) with time-dependent cytokine profile. *Cytokine* 2017; 93: 44-50. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.05.003>
57. SUGIMOTO K, KAKIMI K, TAKEUCHI H, FUJIEDA N, SAITO K, SATO E et al. Irreversible electroporation versus radiofrequency ablation: comparison of systemic immune responses in patients with hepatocellular carcinoma. *J Vasc Interv Radiol* 2019; 30: 845-853.e6. <https://doi.org/10.1016/j.jvir.2019.03.002>
58. DAI Z, WANG Z, LEI K, LIAO J, PENG Z, LIN M et al. Irreversible electroporation induces CD8+ T cell immune response against post-ablation hepatocellular carcinoma growth. *Cancer Lett* 2021; 503: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.01.001>
59. ALNAGGAR M, LIN M, MESMAR A, LIANG S, QAID A, XU K et al. Allogenic natural killer cell immunotherapy combined with irreversible electroporation for stage IV Hepatocellular carcinoma: survival outcome. *Cell Physiol Biochem* 2018; 48: 1882-1893. <https://doi.org/10.1159/000492509>
60. YANG Y, QIN Z, DU D, WU Y, QIU S, MU F et al. Safety and short-term efficacy of irreversible electroporation and allogenic natural killer cell immunotherapy combination in the treatment of patients with unresectable primary liver cancer. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2019; 42: 48-59. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8263666/>
61. SHI X, O'NEILL C, WANG X, CHEN Y, YU Y, TAN M et al. Irreversible electroporation enhances immunotherapeutic effect in the off-target tumor in a murine model of orthotopic HCC. *Am J Cancer Res* 2021; 11: 3304-3319. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34249464>
62. LLOVET JM, DE BAERE T, KULIK L, HABER PK, GRETEN TF, MEYER T, LENCIONI R. Locoregional therapies in the era of molecular and immune treatments for hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021; 18: 293-313. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8263666/>
63. ARELLANO RS. What's new in percutaneous ablative strategies for hepatocellular carcinoma and colorectal hepatic metastases? 2020 Update. *Curr Oncol Rep* 2020; 22: 105. <https://doi.org/10.1007/s11912-020-00967-y>
64. VIVAS I, IRIBARREN K, LOZANO T, CANO D, LASARTE-CIA A, CHOCARRO S et al. Therapeutic effect of irreversible electroporation in combination with Poly-ICLC adjuvant in preclinical models of hepatocellular carcinoma. *J Vasc Interv Radiol* 2019; 30: 1098-1105. <https://doi.org/10.1016/j.jvir.2019.02.023>
65. LASARTE-CIA A, LOZANO T, CANO D, MARTÍN-OTAL C, NAVARRO F, GORRAIZ M et al. Intratumoral STING agonist injection combined with irreversible electroporation delays tumor growth in a model of hepatocarcinoma. *Biomed Res Int* 2021; 2021: 1-9. <https://doi.org/10.1155/2021/8852233>