

## Numerical Simulation of the Thermal Response Induced by Electrode Array Geometries in Anisotropic Tissues Containing Multicentric Tumors Under Electrolytic Electroporation

Enaide Maine Calzado<sup>1,2,3</sup>, Nahuel Olaiz<sup>4</sup>, Luis E. Bergues Cabrales<sup>5</sup> and Pablo Turjanski<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Departamento de Computación. Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Ciencias de la Computación (ICC). Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup> Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

<sup>4</sup> Instituto de Física Interdisciplinaria y Aplicada, Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

<sup>5</sup> Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado, Departamento de Ciencias e Innovación, Universidad de Oriente, Cuba.  
pturjanski@gmail.com

**Abstract.** The Pennes bioheat transfer equation is the most widely used model for calculating tumor-induced temperature when physical therapies such as electroporation and electrolysis are applied. This work proposes a numerical-computational model based on a modification of the Pennes bioheat equation to quantify spatiotemporal thermal gradients in a multicentric tumor surrounded by healthy tissue, considering them as linear, heterogeneous, and anisotropic media in arbitrary shapes. Our model takes into account the thermal, electrical, and biological properties of each tissue; in addition, Green's functions are discretized to include matching boundary conditions using the finite element method. The objective of this work is to optimize electrode array geometries to maximize therapeutic coverage in the tumor and minimize damage to surrounding healthy tissue when using the synergistic combination of electroporation and electrolysis, known as electrolytic electroporation.

**Keywords:** Green's functions, Temperature, Electrolytic electroporation.

## Simulación Numérica de la Respuesta Térmica Inducida por geometrías de arreglos de Electrodo en tejidos anisotrópicos que contiene tumores multicéntricos bajo la electroporación electrolítica

**Resumen.** La ecuación de transferencia de biocalor de Pennes es el modelo más utilizado para calcular la temperatura inducida en un tumor cuando se aplican terapias físicas como la electroporación y la electrólisis. En este trabajo se propone un modelo numérico-computacional basado en una modificación de la ecuación de biocalor de Pennes para cuantificar los gradientes térmicos espacio-temporales en un tumor multicéntrico, rodeado de su tejido sano, considerándolos como medios lineales, heterogéneos y anisotrópicos en formas arbitrarias. Nuestro modelo tiene en cuenta las propiedades térmicas, eléctricas y biológicas de cada tejido; además se discretizan las funciones de Green para incluir condiciones de contorno coincidentes mediante el método de elementos finitos. El objetivo de este trabajo es optimizar las geometrías de arreglos de electrodos para maximizar la cobertura terapéutica en el tumor y minimizar el daño al tejido sano circundante cuando se utiliza la combinación sinérgica entre la electroporación y la electrólisis, conocida como electroporación electrolítica.

**Palabras clave:** Funciones de Green, Temperatura, Electroporación electrolítica.

## 1 Introducción

El tratamiento de tumores grandes y profundos localizados cerca de estructuras vitales representa un desafío considerable para la oncología, especialmente cuando las terapias convencionales como la quimioterapia, radioterapia o cirugía resultan ineficaces (ASCO Annual Meeting, 2025). Esta limitación ha impulsado el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, que, según los efectos biofísicos inducidos en los tejidos, se clasifican en térmicas y no térmicas. Las terapias térmicas, como la ablación intersticial por microondas, radiofrecuencia o láser, disipan energía eléctrica en forma de calor, elevando la temperatura en la zona tratada por encima de los 42 °C y provocando muerte celular (Yu et al., 2017).

En contraste, la crioablación utiliza temperaturas inferiores a -40 °C para generar gradientes osmóticos que comprometen la integridad de la membrana celular, causando necrosis tisular (Gage et al., 2009). Aunque estas terapias térmicas son relativamente fáciles de aplicar, su eficacia clínica es limitada debido al daño colateral sobre estructuras anatómicas sensibles, como nervios, vasos sanguíneos o el páncreas (Bhardwaj et al., 2009). Ante estas limitaciones, ha cobrado relevancia el desarrollo de técnicas no térmicas basadas en mecanismos biofísicos alternativos, como la electroquimioterapia (ECT), electroporación irreversible (IRE), electrotransferencia génica (GET), ablación electrolítica (EA) y electroporación electrolítica (E2) (Miklavcic, 2017; Klein et al., 2019; Guenther et al., 2020; O'Brien e Ignaszak, 2020).

En particular, la E2 es una técnica emergente que combina la electroporación con la electrólisis, mejorando la eficacia de esta última en función del tiempo de exposición y reduciendo las contracciones musculares típicas de los pulsos eléctricos de alta intensidad (Rubinsky et al., 2016). Esta técnica emplea pocos pulsos eléctricos (aproximadamente 8 pulsos), con forma de decaimiento exponencial e intensidades de campo eléctrico inferiores a las utilizadas en IRE (<1000 V/m) (Klein et al., 2020). La sinergia entre ambos mecanismos facilita una mejor absorción intracelular de los productos de electrólisis.

Durante la aplicación de E2 se genera calor por efecto resistivo debido al movimiento iónico, provocando una propagación térmica en el tejido (Haemmerich, 2006). Esta distribución térmica puede medirse mediante termografía infrarroja (Dutta, 2017); sin embargo, esta técnica presenta limitaciones que pueden dar lugar a falsos positivos y negativos. Por ello, numerosos estudios han empleado simulaciones computacionales para analizar la distribución de temperatura en medios biológicos sometidos a diferentes terapias (Shunyao et al., 2024; Manpreet Singh, 2024). Estos trabajos han evidenciado que el modelado térmico es más complejo que el eléctrico, debido a la naturaleza difusiva y dependiente del tiempo de los procesos de transferencia de calor.

Uno de los modelos más utilizados para el análisis térmico en tejidos biológicos es la ecuación de biocalor de Pennes (Tasnim et al., 2024; Ostadhossein et al., 2024), que describe la conservación de energía basada en la ley de Fourier para la conducción térmica (Dutta, 2017). Esta ecuación permite modelar la distribución de temperatura tanto en tejidos homogéneos como heterogéneos, incorporando fuentes internas de calor (Das K. et al., 2014). No obstante, la ecuación de Pennes presenta limitaciones al asumir medios homogéneos, lineales e isótropos, y simplifica aspectos fisiológicos claves. Además, en modelos más realistas, las condiciones iniciales y de frontera no siempre pueden definirse con precisión.

En este trabajo, implementamos un modelo numérico-computacional basado en una modificación de la ecuación de Pennes propuesta por (Roca et al., 2019), con el objetivo de cuantificar los gradientes térmicos espacio-temporales en un tumor multicéntrico rodeado de tejido sano. Esta herramienta permite optimizar la geometría de los arreglos de electrodos para maximizar la cobertura terapéutica del tumor y minimizar el daño al tejido sano adyacente durante la aplicación de la electroporación electrolítica (E2).

## 2 Materiales y Métodos

El modelo computacional propuesto sigue un proceso estándar de E2, aplicando 8 pulsos (1.750 V de voltaje pico inicial, 10 ms y 1 Hz) sobre un modelo de tejido sano que contiene 3 nódulos tumorales de diferentes tamaños. El proceso consta de dos submodelos (ver Fig. 1):

**Submodelo *ON time*:** Representa la fase activa del pulso, donde se aplica el campo eléctrico. Durante la etapa *ON time* la corriente aumenta con un bajo  $\Delta t$  ( $\Delta t = 1 \times 10^{-12}$ ) hasta que el voltaje objetivo es alcanzado  $V(t) = 1.750$  V (Fase 1). Una vez alcanzado el voltaje objetivo,  $V(t)$  sigue la ecuación de descarga de un capacitor con un  $\Delta t = 1 \times 10^{-8}$  (Fase 2):

$$V(t) = V_p \cdot e^{\left(\frac{-t}{\tau}\right)} \quad (1)$$

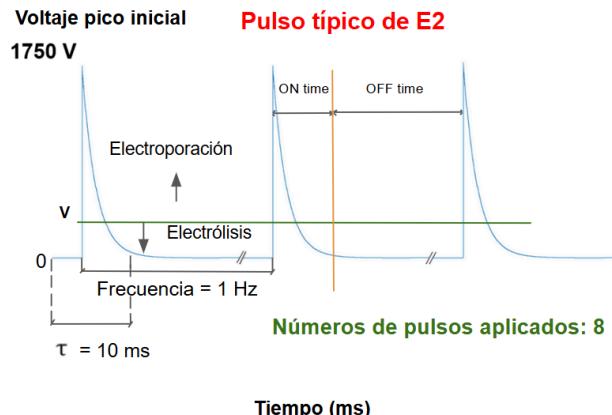
donde  $V_p$  es el voltaje pico inicial (1.750 V). Luego, la corriente eléctrica decrece utilizando un bajo  $\Delta t$  ( $\Delta t = 1 \times 10^{-12}$ ) hasta llegar a  $V(t) = 0$  (Fase 3).

**Submodelo *OFF time*:** Representa la fase inactiva del pulso, cuando el campo eléctrico es nulo. Se evalúa la evolución de los procesos térmicos iniciados en la fase

*ON time* y su impacto en el tejido tumoral. La geometría del modelo computacional tiene en cuenta dos electrodos de platino de agujas rectas que se insertan paralelo al eje z. Los electrodos se separan a una distancia de 1 cm. Para la simulación del sistema los electrodos se consideran como un alambre recto de radio 0.037 mm, conductividad eléctrica mucho mayor que 1 y una profundidad de inserción de 3 cm en el tejido (parte del electrodo en contacto directo con el tejido). La parte del electrodo fuera del tejido se considera aislada eléctricamente.

## 2.1 Análisis térmico

Para la simulación numérica de los efectos térmicos inducidos por la aplicación de E2 en un modelo de tejido sano que contiene 3 nódulos tumorales se implementaron dos enfoques numéricos basados en el modelo clásico de la ecuación de Pennes y la versión modificada de la ecuación de Pennes basado en funciones de Green propuesta por (Roca et al., 2019).



**Fig. 1.** Representación esquemática de un pulso estándar de E2. Voltaje pico inicial de 1.750 V y una frecuencia de 1 Hz. La duración del pulso ( $\tau$ ) es de 10 ms. La línea verde indica el valor de voltaje umbral (30 V) para el cual se produce la fase de activación entre la electroporación y la electrólisis. Intervalo de activación (*ON time*) e intervalo de reposo (*OFF time*).

**Modelo clásico de biocalor de Pennes.** La transferencia de calor entre dos medios (tumores y tejido sano circundante) puede modelarse mediante la ecuación de transferencia de biocalor (Das K. et al., 2014) que rige la distribución de temperatura,  $T = T(\vec{r}, t)$ , la cual viene dada por

$$\rho c \frac{\partial}{\partial t} T = \nabla \cdot (\vec{k} \cdot \nabla T) + \vec{j} \cdot \vec{E} - \rho_b \omega_b c_b (T - T_b) + Q(\vec{r}, t) \quad (2)$$

En esta ecuación,  $t$  representa el tiempo y  $\vec{r} \in V := U_{i=0}^N V_i$  la posición espacial dentro del dominio. Cada tejido se caracteriza por su densidad de masa  $\rho(\text{kg}/\text{m}^3)$  y la densidad de calor específico  $c(\text{J}/\text{kg} \cdot \text{K})$ . La conductividad térmica está representada

por el tensor simétrico real de segundo orden  $\vec{k}$  ( $\text{W}/(\text{m}^2\text{K})$ ). Los parámetros  $\vec{j}(\vec{r}, t)$  ( $\text{A}/\text{m}^2$ ) y  $\vec{E}(\vec{r}, t)$  ( $\text{V}/\text{m}$ ) son los campos de densidad de corriente e intensidad de campo eléctrico, respectivamente, siendo su producto escalar  $\vec{j} \cdot \vec{E}$  el término de calentamiento por efecto Joule. Aunque las fuentes principales de calor se localizan en las regiones tumorales, el calentamiento resistivo puede presentar variaciones según la naturaleza del tejido en que se genera.

El término  $Q(\vec{r}, t)$  describe el calor metabólico producido tanto en los tumores como en los tejidos sanos circundantes, el cual difiere entre ellos debido a las diferencias en los procesos metabólicos (Bhardwaj et al., 2009). La contribución asociada a la perfusión sanguínea está expresada mediante el término  $-\rho_b \omega_b c_b (T - T_b)$ , donde  $T_b$  es la temperatura arterial de la sangre y los parámetros  $\omega_b$ ,  $\rho_b$  y  $c_b$  representan, la perfusión, la densidad y el calor específico de la sangre, respectivamente (Dutta, 2017). Estos valores se consideran constantes dentro de cada tipo de tejido. Finalmente, la temperatura  $T$  se refiere a la región  $V_i$  correspondiente, indicándose como  $T^i$  para cada subvolumen  $i = 1, \dots, N$ .

**Modelo modificado de la ecuación de Pennes.** Para el cálculo de los patrones de temperatura inducidos por la E2 en un modelo de tejido sano que contiene varios nódulos tumorales (primarios y/o metastásicos) con formas arbitrarias y diferentes características histogénicas, empleamos la solución analítica propuesta por (Roca et al., 2019), esta ecuación viene dada por:

$$T(\vec{r}_l, t', \vec{r}, t') = \sum_n \phi_n(\vec{r}) \int_0^{t'} \left[ \int dV \bar{\Phi}_n(\vec{r}) \frac{f(\vec{r}, t)}{\rho c} + \oint dS \bar{\Phi}_n(\vec{r}) \frac{q(\vec{r}, t)}{\rho c} \right] e^{-\Lambda_n(t' - t)} dt \quad (3)$$

donde  $T(\vec{r}_l, t', \vec{r}, t')$  es la temperatura inducida en el punto  $\vec{r}_l$  en el instante de tiempo  $t'$ , y sobre el punto  $\vec{r}$  en el instante de tiempo  $t$ .  $\phi_n(\vec{r})$  son las funciones propias de la base ortonormal del dominio y  $\Lambda_n$  es el autovalor que incorpora los parámetros de conductividad y perfusión de la sangre de ambos tejidos.

La ecuación (3) evidencia que  $T$  puede calcularse en ambos medios (tumor y tejido sano) a partir de la superposición de las fuentes de calor  $f(\vec{r}, t) = \vec{j}(\vec{r}) \cdot \vec{E}(\vec{r}) + q(\vec{r}, t)$ , donde  $q(\vec{r}, t)$  es la fuente calorífica en el límite del tumor. Las variables temporales  $t$  y  $t'$  en la ecuación (3) cumplen funciones distintas. La variable  $t$  representa el tiempo en que actúan las fuentes térmicas dentro del intervalo de integración temporal, mientras que  $t'$  corresponde al instante en el cual se calcula la respuesta térmica del sistema. De este modo, la solución integral en la ecuación expresa la influencia acumulada de las fuentes pasadas sobre la temperatura en cada punto del dominio en el tiempo actual  $t'$ .

## 2.2 Cálculos numéricos

Los cálculos numéricos utilizaron parámetros tomados de (Calzado et al., 2019). Las ecuaciones se resolvieron mediante métodos de elementos finitos usando el software de simulación Comsol Multiphysics 5.5 (COMSOL AB, Suecia, número de licencia 2074929 FNL, facilitado por el Laboratorio de Electromagnetismo Computacional, UNICAMP, Brasil). Se resolvieron numéricamente la ecuación de Poisson, la ecuación de Laplace, la ecuación clásica de transferencia biológica de Pennes y la ecuación modificada de Pennes usando funciones de Green en un dominio cúbico 3D (volumen de malla 343.1 cm<sup>3</sup>).

Se calcularon los valores del potencial eléctrico y la intensidad del campo eléctrico usando el módulo AC/CD y la distribución de la temperatura se calculó usando el módulo de transferencia de biocalor. Se simuló la aplicación de 8 pulsos eléctricos con decaimiento exponencial, con una duración de 10 ms, una frecuencia 1 Hz y voltaje pico 1.750 V. El dominio computacional se discretiza en 2 075 792 elementos de malla tetraédrica, incluidos 94 elementos de vértices, 12 039 elementos de borde y 129 094 elementos límite.

## 3 Resultados y Discusión

Se realizaron simulaciones numéricas para investigar el comportamiento de la temperatura durante el tratamiento con E2 en un modelo geométrico constituido por 3 nódulos tumorales rodeados de un tejido sano circundante. Se utilizaron 8 pulsos eléctricos de 10 ms, un voltaje de 1.750 V a una frecuencia de operación de 1 Hz aplicados a los electrodos.

La Fig. 2 muestra el análisis comparativo de la distribución de temperatura en un modelo de tumor multicéntrico rodeado de su tejido sano, obtenidas en  $t = 100$  s mediante la simulación numérica de la ecuación de bio-calor de Pennes de forma clásica (a) y su versión modificada usando funciones de Green (b). Ambos modelos muestran un gradiente térmico heterogéneo, con temperaturas máximas localizadas en las regiones donde están ubicados los electrodos, alcanzando valores de ~38 °C, mientras que temperaturas de ~37.5 °C se inducen en las zonas donde se localizan los tumores (tumor 1, 2 y 3), mientras que el tejido sano circundante presenta un perfil de enfriamiento progresivo (36.5–37.5 °C).

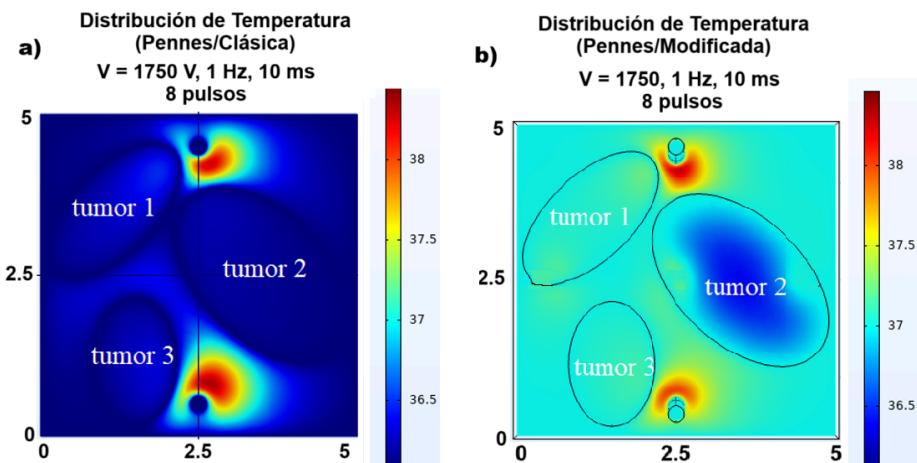
La versión modificada de la ecuación de Pennes (ver Fig. 2b) exhibe una distribución más fisiológicamente realista (Diller, 1992; Haemmerich y Wood, 2006; Van den Bos et al., 2016), con una transición térmica suavizada entre los tumores y el tejido sano, lo que sugiere una mejor captura de los efectos de perfusión y heterogeneidad del tejido en comparación con el modelo clásico (ver Fig. 2a).

A modo de evaluar el desempeño del modelo frente a variaciones de los principales parámetros del tratamiento de E2 (voltaje y frecuencia), se realizó un análisis comparativo entre la variación de temperatura generada por el modelo de transferencia de bio-calor de Pennes clásico y el modelo modificado de la ecuación de Pennes con funciones de Green, para valores entre 500-3.000 V y 0.1-1.0 Hz, respectivamente. La Fig. 3a presenta un análisis comparativo del comportamiento térmico bajo los modelos de bio-calor de Pennes (Tmáx Pennes) y el modelo

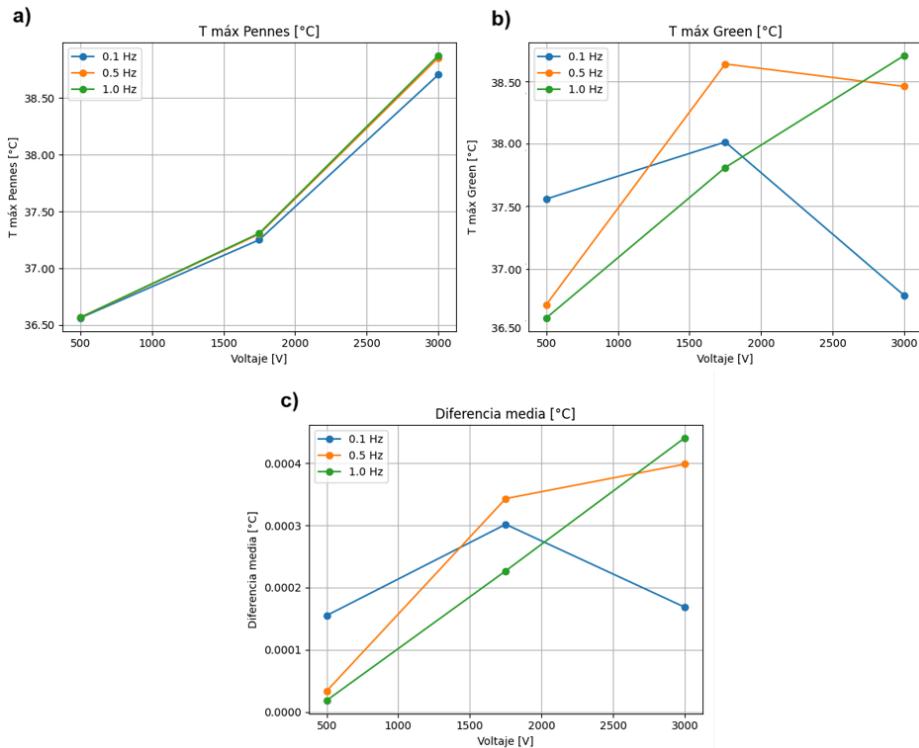
modificado de Pennes basado en funciones de Green ( $T_{\max}$  Green), considerando tres niveles de voltaje (500 V, 1.750 V y 3.000 V) y tres frecuencias de excitación (0.1 Hz, 0.5 Hz y 1.0 Hz).

En la figura 3a se observa un incremento casi lineal de la temperatura máxima predicha por el modelo de Pennes conforme aumenta el voltaje, siendo este comportamiento similar para todas las frecuencias. En contraste, la Fig. 3b muestra una respuesta no monótona del modelo de Penes basado en funciones de Green, particularmente a 0.5 Hz, donde se alcanza la mayor temperatura a 1.750 V en lugar de 3.000 V.

La Fig. 3c expone la diferencia media de temperatura entre ambos modelos, revelando discrepancias crecientes con el voltaje para 0.5 Hz y 1.0 Hz, mientras que para 0.1 Hz la diferencia presenta un comportamiento no lineal, alcanzando un máximo intermedio. Estos resultados evidencian que el modelo de Green puede predecir respuestas térmicas cualitativamente distintas a las del modelo clásico de Pennes, especialmente bajo condiciones de mayor excitación eléctrica y frecuencia.



**Fig. 2.** Comparación de los perfiles de distribución de temperatura en un modelo de tumor multicéntrico: ecuación de bio-calor de Pennes clásica (a) vs. Ecuación de Pennes modificada usando funciones de Green (b) para  $t = 100$  s. Se aplican 8 pulsos eléctricos con un voltaje de 1.750 V con una caída exponencial de  $100 \mu\text{F}$  durante 10 ms a una frecuencia de 1Hz.



**Fig. 3.** Comparación de la respuesta térmica máxima y diferencia media entre el modelo clásico de transferencia de bio-calor de Pennes ( $T_{\text{máx}} \text{ Pennes}$ ) y el modelo modificado de la ecuación de Pennes usando funciones de Green ( $T_{\text{máx}} \text{ Green}$ ) bajo diferentes parámetros de excitación ( $V = 500 \text{ V}, 1.750 \text{ V} \text{ y } 3.000 \text{ V}$  y  $f = 0.1 \text{ Hz}, 0.5 \text{ Hz} \text{ y } 1.0 \text{ Hz}$ ) usados en la electroporación electrolítica (E2).

Los resultados muestran que la temperatura puede aumentar hasta los 39 °C en total. Resultados similares se han reportado para varios tratamientos basados en electroporación (van den Bos et al., 2016; Zmuc et al., 2019). Se conoce que el daño tisular permanente puede ocurrir instantáneamente debido a temperaturas superiores a 90 °C, pero también de forma crónica con temperaturas superiores a 45 °C cuando la temperatura se eleva en un período de tiempo específico.

El umbral de temperatura, así como el tiempo mínimo necesario, dependen del tipo de célula o tejido. En este caso, la temperatura no excedió los 39°C, siendo una temperatura aceptable para las células (Diller, 1992). Por otro lado, se ha reportado que la necrosis térmica tiene lugar inmediatamente después del tratamiento, en los cuales no se ha observado una disminución instantánea en la viabilidad celular, concluyendo que el aumento de temperatura, aunque significativo, no conduce a la muerte celular cuando se aplican estos tipos de terapias, en concordancia con (Yanpeng et al., 2022; Guenther et al., 2020).

Para reforzar la interpretación de los resultados, se destaca que la versión modificada de la ecuación de Pennes aplicada en este estudio no se limita a una

aproximación isotrópica homogénea, sino que incorpora explícitamente la anisotropía térmica y la heterogeneidad intrínseca de los tejidos mediante el uso de funciones de Green y condiciones de contorno de continuidad de flujo térmico y temperatura en las interfaces. Esta formulación matemática permite representar de forma diferenciada la interacción térmica entre los nódulos tumorales y el tejido sano circundante, generando distribuciones de temperatura con transiciones más progresivas y perfiles espaciales más cercanos al comportamiento fisiológico descrito en la literatura (Diller, 1992; Haemmerich y Wood, 2006; Van den Bos et al., 2016).

Aunque en el presente trabajo no se dispone de validación cuantitativa mediante datos experimentales propios, los patrones obtenidos presentan coherencia cualitativa con estudios previos de ablación térmica y termografía en medios biológicos heterogéneos, lo que respalda la relevancia del modelo propuesto como herramienta predictiva para la planificación y optimización de protocolos terapéuticos.

Por otro lado, reconocemos que la selección de tres niveles discretos de voltaje y frecuencia constituye una aproximación exploratoria inicial, motivada por la necesidad de acotar el costo computacional de las simulaciones tridimensionales de alta resolución. No obstante, el comportamiento no monótono identificado en el modelo de Pennes modificado sugiere la conveniencia de ampliar la granularidad del muestreo en trabajos futuros, a fin de caracterizar de forma más precisa las dependencias no lineales del sistema y validar la consistencia de los patrones detectados.

#### 4 Conclusiones

La solución numérica de la ecuación modificada de Pennes usando funciones de Green para el cálculo de las distribuciones de temperatura en medios lineales y anisótropo acoplados (tumor sólido y tejido sano circundante), puede ser vital para el entendimiento de los mecanismos de acción antitumoral dependientes de la temperatura. Este enfoque puede ser generalizado a tumores multicéntricos en un tejido con varios nódulos tumorales presentes en el organismo, teniendo en cuenta sus propiedades eléctricas, mecánicas y térmicas. Estos resultados pueden ser de gran significación para la optimización de los protocolos y planificación de tratamientos médicos personalizados basados en este tipo de terapias.

#### Referencias

- ASCO Annual Meeting, <https://am.asco.org/>, last accessed 2025/04/28.
- Bhardwaj, N., Strickland, A.D., Ahmad, F., Atanesyan, L., West, K., Lloyd, D.M. (2009). A comparative histological evaluation of the ablations produced by microwave, cryotherapy and radiofrequency in the liver. *Pathology* 41(2), 168-172.
- Das, K., & Mishra, S. C. (2014). Study of thermal behavior of a biological tissue: An equivalence of Pennes bioheat equation and Wulff continuum model. *Journal of thermal biology*, 45, 103-109.
- Diller, K.R. (1992). Modeling of Bioheat Transfer Processes at High and Low Temperatures. In: *Bioengineering Heat Transfer, Advances in Heat Transfer*, 22, 157–357.

- Dutta, K., Kundu, B. (2017). A revised approach for an exact analytical solution for thermal response in biological tissues significant in therapeutic treatments, *Journal of Thermal Biology*, 66, 33-48.
- Gage, A.A., Baust, J.M., Baust, J.G. (2009). Experimental cryosurgery investigations in vivo. *Cryobiology* 59(3), 229-243.
- Guenther, E., Klein, N., Mikus, P., Botea, F., Pautov, M., Lugnani, F., Macchioro, M., Popescu, I., Stehling, M.K., Guenther, E., Klein, N., Mikus, P., Botea, F., Pautov, M., Lugnani, F., Macchioro, M., Popescu, I., Stehling, M.K., Rubinsky, B. (2020). Toward a clinical real time tissue ablation technology: combining electroporation and electrolysis (E2). *PeerJ* 8, e7985.
- Haemmerich, D., Wood, B.J. (2006). Hepatic radiofrequency ablation at low frequencies preferentially heats tumour tissue. *Int J Hyperthermia* 22(7), 563-74.
- Klein, N., Guenther, E., Botea, F., Pautov, M., Dima, S., Tomescu, D., Popescu, M., Ivorra, A., Stehling, Popescu I. (2019). The combination of electroporation and electrolysis (E2) employing different electrode arrays for ablation of large tissue volumes. *PloS one* 14(8), e0221393.
- Klein, N., Mercadal, B., Stehling, M., Ivorra, A. (2020). In vitro study on the mechanism of action of electrolytic electroporation (E2). *Bioelectrochemistry* 133, 107482.
- Luan, S., Ji, Y., Liu, Y., Zhu L., Zhao, H., Zhou H., Li, K., Zhu, W., Zhu, B. (2024). AI-powered ultrasonic thermometry for HIFU therapy in deep organ, *Ultrasonics Sonochemistry*, 111, 107154.
- Miklavecic, D. (2017). *Handbook of Electroporation*. Berlin, Germany: Springer International Publishing, pp 1-14.
- O'brien, C., Ignaszak, A. (2020). Advances in the Electrochemical Treatment (EChT) of cancers and tumours: A review exploring the current trends, advancements, and mechanisms of electrolytic tumour ablation. *ChemElectroChem* 7, 3895-3904.
- Ostadhossein, R., Hoseinzadeh, S. (2024). Developing computational methods of heat flow using bioheat equation enhancing skin thermal modeling efficiency, *International Journal of Numerical Methods for Heat & Fluid Flow*, 34(3), 1380-1398.
- Roca, E.J.O., Bergues, L.E.C., Bory J.R. (2019). Analytical solution of the bioheat equation for thermal response induced by any electrode array in anisotropic tissues with arbitrary shapes containing multiple-tumor nodules *Revista Mexicana de Física* 65, 284–290.
- Rubinsky, B. (2020). Toward a clinical real time tissue ablation technology: combining electroporation and electrolysis (E2). *PeerJ* 8, e7985.
- Rubinsky, B., Gunther, E., Botea, F., Lugnani, F., Herlea, V., Mikus, P., Pautov, M., Klein, N., Pecheanu, C., Stehling, M.K., Singh, M. (2024). Modified Pennes bioheat equation with heterogeneous blood perfusion: A newer perspective, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 218, 124698.
- Tomescu, D., Macchioro, M., Dima, S., Serban, A., Popescu, I. (2016). Minimally Invasive, Non-Thermal Tissue Ablation with a Single Exponential Decay Electrolytic Electroporation Waveform. *JTMR* 21(4), 247.
- Tasnim, Z., Nasrin, R. (2024). Thermal wave and Pennes' models of bioheat transfer in human skin: A transient comparative analysis *Heliyon*, 10(21), e40109.
- Van den Bos, W., Scheffer, H.J., Vogel, J.A., Wagstaff, P.G.K., Bruin, D.M. de, Jong, M.C., Van Gemert, M.J.C., La Rosette, J.J.M.C.H., Meijerink, M.R., Klaessens, J.H., Verdaasdonk, R.M. (2016). Thermal Energy during Irreversible Electroporation and the Influence of Different Ablation Parameters. *Journal of vascular and interventional radiology : JVIR*, 27(3):433-43.
- Yanpeng, L.V., Heping, L., Zhikui, F., Jianhua, Z., Genyong, C., Chenguo, Y. (2022). The Enlargement of Ablation Area by Electrolytic Irreversible Electroporation (E-IRE) Using Pulsed Field with Bias DC Field, *Annals of Biomedical Engineering*, 50(12), 1964–1973.

- Yu, J., Liang, P. (2017). Status and advancement of microwave ablation in China. International Journal of Hyperthermia 33(3), 278-287.
- Zmuc, J., Gasljevic, G., Sersa, G., Edhemovic, I., Boc, N., Seliskar, A., Plavec, T., Brloznić, M., Milevoj, N., Brecelj, E., Kos, B., Izlakar, J., Jarm, T., Snoj, M., Stukelj, M., Miklavcic, D., Cemazar, M. (2019). Large Liver Blood Vessels and Bile Ducts Are Not Damaged by Electrochemotherapy with Bleomycin in Pigs. Scientific reports, 9, 3649.