

Baifeng Qian

Dr. med.

Intravascular sequestration of monocytes: a concept and potential for drug delivery and fluorescence-guided liver surgery

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Eduard Ryschich

Background: Liver cancer is presently one of the most common cancers worldwide. Despite multimodal therapy procedures, this malignant disease presents a poor prognosis. Therefore, there is an urgent need for more effective treatment methods. Embolizing approaches such as transarterial chemoembolization belong to the routine techniques for clinical treatment of liver cancer. We hypothesize that blood vessel embolization using leukocyte sequestration can be used for intratumoral drug delivery and labeling of selected liver segments. The last would be especially important for image-guided surgery.

Methods: Human monocytes were isolated from peripheral blood and labeled with doxorubicin, calcein, or IRDye 800CW using direct or indirect methods. Labeling stability, potential toxicity, adhesion to ICAM-1, and doxorubicin-associated cytotoxicity in tumor cells were analyzed *in vitro*. Monocyte sequestration in the liver microvasculature was quantitatively analyzed *ex vivo*, and imaging was studied *in vivo*. Liver segment labeling and boundary demarcation were studied using isolated mouse and pig liver perfusion and via intraportal injection in mouse liver tumor models.

Results: For drug delivery, monocytes and macrophages showed high efficiency doxorubicin loading and release. Doxorubicin showed high cytotoxic effects on Panc02 and Hep55.1C cells. For preparation of liver segment labeling, the highest labeling efficiency of monocytes was achieved using direct labeling with IRDye 800CW. The labeling was stable and not toxic. Monocytes and macrophages were almost completely sequestered in liver *ex vivo* and *in vivo*, but not in tumor blood vessels *in vivo*. Local monocyte sequestration resulted in the excellent labeling of selected liver segments and in strong segment boundary demarcation.

Conclusions: The present experimental study shows that superselective injection of isolated monocytes results in their sequestration in the hepatic microvascular system, which demarcates related liver segments well. This technique could potentially be used for the fluorescent imaging of liver segments and may have a potential for fluorescence-guided liver surgery. Tumor blood vessels are characterized by low capability for leukocyte sequestration and therefore, do not represent a promising base for drug delivery.

Baifeng Qian

Dr. med.

Die intravaskuläre Sequestrierung von Monozyten: Konzept und das Potenzial für die lokale Substanzanreicherung und Fluoreszenz-Navigierte Leberchirurgie

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Eduard Ryschich

Hintergrund: Leberkrebs ist derzeit eine der häufigsten Krebserkrankungen weltweit. Trotz multimodaler Therapieverfahren weist diese maligne Erkrankung eine schlechte Prognose auf. Daher besteht ein dringender Bedarf an effektiveren Behandlungsmethoden. Embolisierende Ansätze wie die transarterielle Chemoembolisation gehören zu den Routinemethoden bei der klinischen Behandlung von Leberkrebs. Wir stellen die Hypothese auf, dass die Blutgefäßembolisation unter Verwendung von Leukozytensequestration für die intratumorale Arzneimittelabgabe und die Markierung ausgewählter Lebersegmente verwendet werden kann. Letzteres wäre besonders interessant für die intraoperative Navigation.

Methoden: Humane Monozyten wurden aus peripherem Blut isoliert und mittels direkter oder indirekter Methoden mit Doxorubicin, Calcein oder IRDye 800CW markiert. Die Markierungsstabilität, die potenzielle Toxizität, die Adhäsion an ICAM-1 und die Doxorubicin-assoziierte Zytotoxizität in Tumorzellen wurden *in vitro* analysiert. Die Monozyten-Sequestrierung im Leber-Mikrogefäßsystem wurde *ex vivo* quantitativ analysiert, und die Bildgebung wurde *in vivo* untersucht. Die Lebersegmentmarkierung wurde mittels isolierter Maus- und Schweineleberperfusion und mittels intraportaler Injektion in Mauslebertumormodellen untersucht.

Ergebnisse: Monozyten und Makrophagen zeigen eine hohe Doxorubicinbeladung und -freisetzung. Die zytotoxische Wirkung von Doxorubicin auf Panc02- und Hep55.1C-Zellen war sehr hoch. Für die Lebersegmentmarkierung wurde die höchste Markierungseffizienz von Monozyten durch direkte Markierung mit IRDye 800CW erreicht. Die Markierung war stabil und nicht toxisch. Monozyten und Makrophagen haben *ex vivo* und *in vivo* fast vollständig in der Leber sequestriert, *in vivo* jedoch nicht in Tumorblutgefäßen. Lokale Monozyten-Sequestrierung führte zu einer ausgezeichneten Markierung ausgewählter Lebersegmente.

Schlussfolgerungen: Die vorliegende experimentelle Studie zeigt, dass die superselektive Injektion isolierter Monozyten zu ihrer Sequestrierung im hepatischen mikrovaskulären System führt, wodurch die entsprechenden Lebersegmente gut abgegrenzt werden. Diese Technik könnte potenziell für die Fluoreszenzbildgebung von Lebersegmenten verwendet werden und könnte ein Potenzial für Fluoreszenz-geführte intraoperative Navigation haben. Tumorblutgefäße sind durch eine geringe Fähigkeit zur Leukozytensequestrierung gekennzeichnet und stellen daher keine Basis für den obengenannten Ansatz dar.