



Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

ANALYSE DES IMMUN MIKROMILEUS VON WEICHGEWEBSSARKOMEN

Funktion, Einflussfaktoren und Interaktion der geweberesidenten T- Zellen

SIMONE VERENA MÜLLER
ALLGEMEIN-, VISZERAL- UND THORAXCHIRURGIE
Universitätsklinikum Hamburg- Eppendorf

1. Antragstellerin

Simone Verena Müller

2. Zusammenfassung

Weichgewebssarkome sind maligne Erkrankungen, die abhängig von Stadium und Subtyp eine limitierte Prognose aufgrund häufiger Lokalrezidive oder Fernmetastasen haben. Es fehlt an effizienten systemischen Therapien, weshalb in den meisten Fällen die chirurgische Resektion und anschließende Radiotherapie als bestmögliche Behandlung verbleibt. Immuntherapien werden bereits in klinischen Studien getestet und zeigen vielversprechende Ergebnisse in einige der Subtypen. Allerdings zeigt sich dabei auch ein großer Bedarf an klinischer und experimenteller Forschung, insbesondere über das Immunumfeld der Tumore. Ziel dieses Forschungsprojektes ist deshalb, das Wissen über das Immunmikroumfeld von Weichgewebssarkomen zu erweitern und damit einen weiteren Schritt in der Entwicklung von potenten Immuntherapien zu ermöglichen. Dabei stellen geweberesidente T- Zellen (T_{RM}), als nachgewiesene positive Faktoren in der Tumorbekämpfung durch das Immunsystems den Fokus des Projekts dar. Da ihr Vorkommen in Sarkomen bisher noch nicht untersucht wurde, soll diese Population nun in verschiedenen Subtypen untersucht und ihre wichtigsten Marker identifiziert werden. Mit diesen Ergebnissen kann schließlich eine Aussage über Korrelation mit Rezidiv Freiheit oder verbesserter Prognose getroffen werden.

Ein weiteres Ziel der Arbeit ist die Erschaffung von 3D- Sarkom Organoiden. Die bereits durchgeführten Vorarbeiten zeigen vielversprechende Ergebnisse, weshalb nun weitere Zelllinien der verschiedenen Subtypen kultiviert werden sollen. Im Sinne unseres Forschungsprojektes werden schließlich an Ihnen die wichtigsten Funktionen und Einflussfaktoren der T_{RM} - Zellen untersucht. Hierzu wird eine Ko- Kultur der Organoide mit T- Zellen angelegt und mithilfe verschiedener Experimente der Einfluss der Stimulation von TGF- β auf die T_{RM} Zellen, sowie die Ausschüttung von Zytokinen wie TNF- α und IFN- γ evaluiert werden. Schließlich wird der Einfluss der T_{RMS} auf Tumorwachstum oder Apoptose der Tumorzellen untersucht. Bei Bestätigung der Hypothese, dass T_{RM} - Zellen zytotoxisch auf Tumorzellen wirken, kann dieses Forschungsprojekt ein bedeutender Beitrag in der Entwicklung neuer Sarkom Therapien sein.

3. Stand der Forschung

Sarkome sind eine seltene und heterogene Gruppe an malignen Erkrankungen welche vom mesenchymalen Gewebe ausgehen. Da effektive systemische Therapien schwer zu finden sind besteht der Goldstandard der Therapie aktuell aus Resektion und Bestrahlung der Resektionsstelle [1], [2]. Da Immuntherapien immer häufiger in Malignomen zum Einsatz kommen, wird ihr Potential auch zunehmend in Sarkomen geprüft. Erste klinische Studien mit Checkpoint-Inhibitoren zeigen Anzeichen für Wirksamkeit in einzelnen Subtypen[3]. Jedoch heben diese Studien auch das große Interesse an weiterführenden Kenntnissen über Immunreaktionen im Sarkom hervor.

Tumor- residente T- Zellen (T_{RM}), welche im Gewebe verbleiben und nicht rezirkulieren, stellen eine aufstrebende Möglichkeit als prognostische Faktoren und Therapieansätze in Tumoren dar. Diese T- Zell Population wird meist mit den Markern CD103, CD69 und CD49a definiert und kann aus CD4+ oder CD8+ Zellen bestehen [4]. T_{RM} s zeigen einen großen Einfluss auf die Immunität gegen Tumore in anderen Malignomen, werden als erhöht zytotoxisch beschrieben und sind häufig mit einem erhöhten Vorkommen von inhibitorischen Ko-Rezeptoren wie PD- 1 assoziiert. Ihr Potential in der Kontrolle von Tumorwachstum, verbessertem Überleben und Ansprechen auf Immuntherapien konnte bereits nachgewiesen werden [5]–[8]. Obwohl sie also eine gute Option für Immuntherapien darstellen, ist ihr Vorkommen in Weichgewebssarkomen noch nicht beschrieben. Die Literatur zeigt variierende Populationen an tumor- infiltrierenden Lymphozyten in Sarkomen abhängig von Entität. Es konnte bereits eine Korrelation von erhöhten CD8+ Populationen mit verbessertem Outcome und Ansprechen auf Immuntherapie festgestellt werden, weshalb wir besonders an Untergruppen wie T_{RM} - Zellen in dieser Population interessiert sind[9], [10].

Da klinische Studien aufgrund der niedrigen Inzidenz und hohen Heterogenität von Weichgewebssarkomen schwer durchzuführen sind, soll die Testung der Therapie am Gewebe in vitro Aufschluss über die genaue Wirkungsweise geben[12]. Ein Ansatz dafür ist die Entwicklung von Tumoroïden als dreidimensionale Zellkulturen. Tumoroïde von anderen Malignomen sind bereits gut etabliert, während die Entwicklung von Sarkom Tumoroïden noch eine Herausforderung darstellt. Jedoch können sie als hochwertige Möglichkeit Genetik, Eigenschaften, Immunumfeld und Interaktionen der Zellen zu beurteilen dienen und Fortschritte in der Entwicklung von neuen Therapien ermöglichen [13].

4. Vorarbeiten

Im Vorfeld dieses Förderantrags wurden bereits verschiedene Sarkom Entitäten mit Fokus auf ihr Immunumfeld untersucht. Durch die Verwendung von Durchflusszytometrie konnte eine relevante Anzahl von Zellen mit tumor- residenten Markern gefunden werden. Hierbei zeigte sich insbesondere eine relevante Anzahl von CD8+CD49a+CD103+ Zellen, welche nun genauer untersucht werden soll (Abb.1). Das Vorkommen im Tumor ist signifikant erhöht im Vergleich zu normalem Fettgewebe oder benignen Tumoren und variiert in den verschiedenen Subtypen. Des Weiteren konnten bereits mehrere Sarkom Entitäten als 2D und 3D Zellkultur angezüchtet werden, welche sich auch nach dem Passagieren stabil und gesund zeigen (Abb.2).

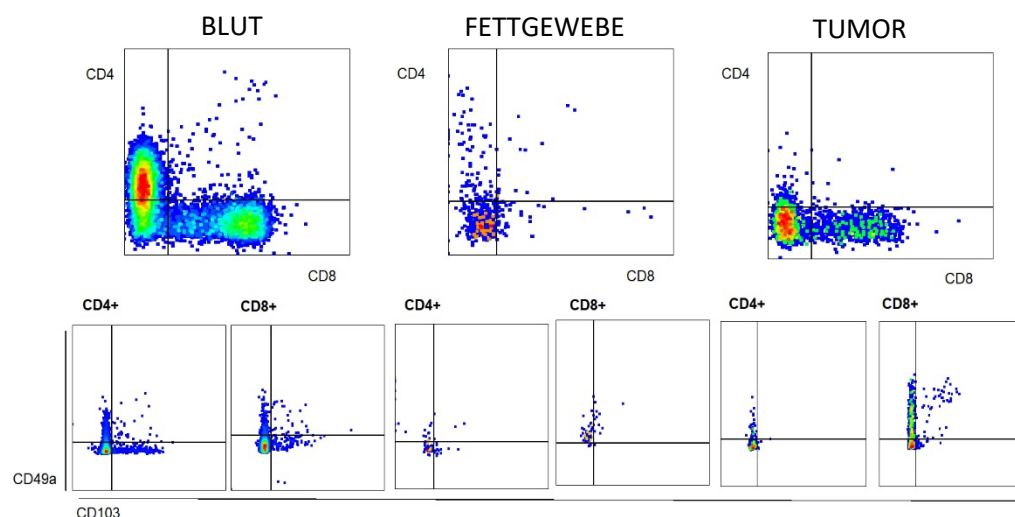


Abb. 1: TRM Marker in verschiedenen T Zell Populationen: Bei Untersuchung der CD3+ Zellen konnten variierende Populationen von CD4+ und CD8+ Zellen detektiert werden. In Blut und Fett sind hauptsächlich CD4+ Zellen vertreten, während CD8+ Zellen die größte Gruppe im Sarkom ausmachen. T_{RM} spezifische Marker sind insbesondere bei den CD8+ Sarkom Zellen zu finden. Hier demonstriert sich eine signifikante Gruppe an CD49a+ als auch CD49a+CD103+ T Zellen.

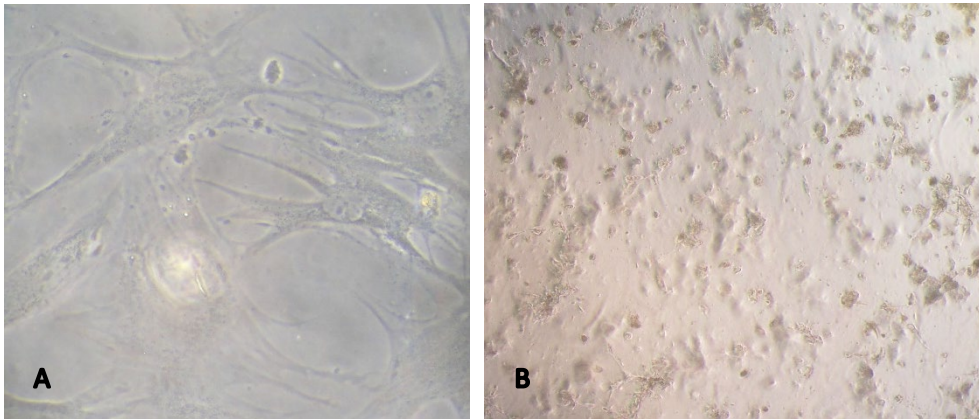


Abb. 2: Zellkulturen eines Myxofibrosarkoms im Lichtmikroskop: A: 2D Zell Kultur von Myxofibrosarkomzellen mit der typischen Struktur von Fibrozyten. (40x Vergrößerung); **B:** 3D Spheroid von Myxofibrosarkom Zellen mit Konglomeraten von Zellen welche die interzellulären Adhäsionen im Tumor zeigen.

5. Projektziele mit Forschungshypothesen

Mit der Untersuchung des Immunmikromilieus von Weichgewebssarkomen zielt das Projekt darauf ab das Wissen über Verhalten und Beziehungen von Sarkomen mit dem Immunsystem zu vertiefen. Als möglicher relevanter Einfluss auf das Immunsystem sollen geweberesidente- T- Zellen dargestellt werden. Bekannte Marker für diese Untergruppe sind CD103, CD69 und CD49a auf CD 4+ und CD8+ T- Zellen, welche bisher noch nicht auf Weichgewebssarkomen untersucht wurden. Als erstes sollen deshalb die relevantesten Marker für T_{RM} Zellen in Weichgewebssarkomen identifiziert werden, um sie in verschiedenen Subtypen dieses Malignoms zu lokalisieren und auch von geweberesidenten T- Zellen im umgebenden Gewebe zu differenzieren. Die Charakterisierung von T_{RM} - Zellen eröffnet schließlich weitergehende Fragen, welche wir mit unserer Forschung angehen möchten: Können T_{RMS} in Sarkomen Rezidive und systemische Erkrankung vermindern? Welche Signale und Modulatoren sind nötig für ihre Entwicklung und Verbleib der Zellen im Gewebe? Des Weiteren, wird in der Literatur wird TGF- β als wichtiger Stimulationsfaktor von T_{RM} Zellen beschrieben und es ist bekannt, dass T_{RMS} vermehrt TNF α und IFN γ ausschütten und somit zytotoxisch wirken. Somit entwickelt sich die Hypothese, dass TGF- β , welches von dendritischen Zellen ausgeschüttet wird, die Entwicklung von T_{RMS} fördert und damit zur Hemmung des Tumorwachstums führt. Somit kann das Vorkommen von T_{RM} Zellen zu Verminderung von Lokalrezidiven und Metastasen führen, was ein Hauptfaktor in der schlechten Prognose dieser Erkrankung darstellt.

Zusammenfassend sind die Ziele dieses Forschungsprojektes:

1. Definition und Lokalisation von geweberesidenten T- Zellen in Weichgewebssarkomen
2. Analyse der Haupteinflussfaktoren für Entwicklung und Verbleib von T_{RMS} in Sarkomen
3. Untersuchung der Funktion von T_{RMS} und Einfluss auf Tumorentwicklung

6. Arbeitsprogramm mit Meilensteinen

1. Ziel: Mithilfe der Durchflusszytometrie soll als erstes die Charakteristika des Immunumfelds und die Expression von T_{RM} - spezifischen Markern darstellen. Weiterführend soll RNA Einzelzellsequenzierung der tumor- infiltrierenden Lymphozyten weitere Marker detektieren und ihre Entwicklung

nachvollziehen. Immunfluoreszenz soll zusätzlich die Lokalisation dieser Untergruppe im Tumor darstellen.

2. Ziel: Hierfür erfolgt eine Erweiterung des Bestandes an 2D und 3D Sarkom Zellkulturen mit verschiedenen Subtypen. Zusätzlich wird die Etablierung von Ko- Kulturen von Tumor Organoiden und Immunzellen fortgesetzt. An diesen wird schließlich der Einfluss von verschiedenen Zytokinen auf die Entwicklung und das Vorkommen von T_{RM}S untersucht. Dafür werden die Ko-Kulturen beispielsweise mit TGF-β stimuliert und anschließend mittels Durchflusszytometrie und Immunfluoreszenz die Menge und Lokalisation an T_{RM}- Zellen evaluiert.

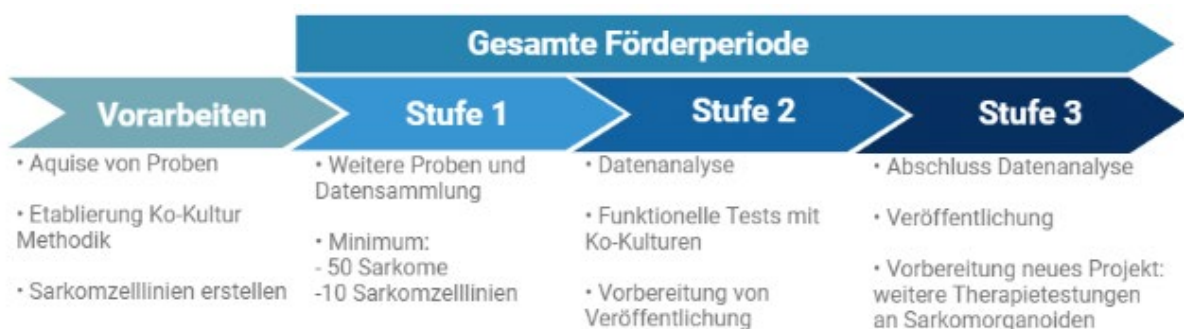
3. Ziel: Nachdem der Stimulator für T_{RM}S detektiert wurde, wird nun die Funktion der Zellen durch Evaluation ihrer ausgeschütteten Zytokine untersucht. Dabei wird nach Stimulation die Menge von TNFα und IFNγ im Medium quantifiziert. Darüber hinaus, wird in Abhängigkeit von stimulierenden und inhibitorischen Faktoren das Tumorstadium mittels Durchflusszytometrie und Zellproliferations-Assays bewertet.

7. Beantragte Mittel: Sachmittel

Bezeichnung	Anzahl	Brutto-Preis gesamt in Euro
ANTIKÖRPER DURCHFLUSSZYTOMETRIE	25	5000
ZELL- ISOLATION (COLLAGENASE I, CELL STRAINER ETC.)	50	5260
DMEM/FBS/PENSTREP	20	680
CULTREX BASEMENT MEMBRANE MATRIX	10	2275
TRYPLE EXPRESS	2	200
KOKULTUR STIMULATION (TGF- β ETC.)	2	1225
IMMUNFLUORESCENZ ANTIKÖRPER	4	2500
RNA EINZELZELLSEQUENZIERUNG	12	24.000
SUMME INSGESAMT		41.140

8. Voraussichtliche Dauer und Projektskizze

Vorarbeiten zum Projekt werden aktuell bereits seit 04/2021 durchgeführt. Insgesamt soll das Projekt im 10/2022 abgeschlossen sein. Die beantragte Förderlaufzeit ist von Oktober 2021 bis Oktober 2022 festgelegt.



9. Referenzen

- [1] M. Sbaraglia, E. Bellan, and A. P. Dei Tos, "The 2020 WHO Classification of Soft Tissue Tumours: news and perspectives," *Pathologica*, pp. 1–15, 2020, doi: 10.32074/1591-951x-213.
- [2] A. R. Dancsok, K. Asleh-Aburaya, and T. O. Nielsen, "Oncotarget 7068 www.impactjournals.com/oncotarget Advances in sarcoma diagnostics and treatment," *Oncotarget*, vol. 8, no. 4, pp. 7068–7093, 2017, [Online]. Available: www.impactjournals.com/oncotarget/.
- [3] H. A. Tawbi *et al.*, "Pembrolizumab in advanced soft-tissue sarcoma and bone sarcoma (SARC028): a multicentre, two-cohort, single-arm, open-label, phase 2 trial," *The Lancet Oncology*, vol. 18, no. 11, pp. 1493–1501, 2017, doi: 10.1016/S1470-2045(17)30624-1.
- [4] S. Corgnac, M. Boutet, M. Kfoury, C. Naltet, and F. Mami-Chouaib, "The emerging role of CD8+ tissue resident memory T (TRM) cells in antitumor immunity: A unique functional contribution of the CD103 integrin," *Frontiers in Immunology*, vol. 9, no. AUG, 2018, doi: 10.3389/fimmu.2018.01904.
- [5] R. Banchereau *et al.*, "Intratumoral CD103 + CD8 + T cells L1 blockade predict response to PD- ," 2021, doi: 10.1136/jitc-2020-002231.
- [6] S. Corgnac *et al.*, "CD103+CD8+ TRM Cells Accumulate in Tumors of Anti-PD-1-Responder Lung Cancer Patients and Are Tumor-Reactive Lymphocytes Enriched with Tc17," *Cell Reports Medicine*, vol. 1, no. 7, 2020, doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100127.
- [7] P. Tallón de Lara *et al.*, "CD39+PD-1+CD8+ T cells mediate metastatic dormancy in breast cancer," *Nature Communications*, vol. 12, no. 1, pp. 1–14, 2021, doi: 10.1038/s41467-021-21045-2.
- [8] A. Byrne *et al.*, "Tissue-resident memory T cells in breast cancer control and immunotherapy responses," *Nature Reviews Clinical Oncology*, vol. 17, no. 6, pp. 341–348, 2020, doi: 10.1038/s41571-020-0333-y.
- [9] W. W. Tseng *et al.*, "Analysis of the Intratumoral Adaptive Immune Response in Well Differentiated and Dedifferentiated Retroperitoneal Liposarcoma," *Sarcoma*, vol. 2015, no. Dd, 2015, doi: 10.1155/2015/547460.
- [10] A. E. M. van Erp *et al.*, "Expression and clinical association of programmed cell death-1, programmed death-ligand-1 and CD8+ lymphocytes in primary sarcomas is subtype dependent," *Oncotarget*, vol. 8, no. 41, pp. 71371–71384, 2017, doi: 10.18632/oncotarget.19071.
- [11] J. J. Diaz-Mejia *et al.*, "Evaluation of methods to assign cell type labels to cell clusters from single-cell RNA-sequencing data," *F1000Research*, vol. 8, pp. 1–28, 2019, doi: 10.12688/f1000research.18490.2.
- [12] G. Colella *et al.*, "Sarcoma spheroids and organoids— Promising tools in the era of personalized medicine," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 2, 2018, doi: 10.3390/ijms19020615.
- [13] N. Fourré, J. M. Millot, R. Garnotel, and P. Jeannesson, "In situ analysis of doxorubicin uptake and cytotoxicity in a 3D culture model of human HT-1080 fibrosarcoma cells," *Anticancer Research*, vol. 26, no. 6 B, pp. 4623–4626, 2006.

Publikationsverzeichnis

- Intraoperative quality assessment of tissue perfusion with indocyanine green (ICG) in a porcine model of mesenteric ischemia. **Duprée A**, Rieß HC, von Kroge PH, Izbicki JR, Debus ES, Mann O, Pinnschmidt HO, Russ D, Detter C, Wipper SH. Under Submission at PLoS One 01/21. PONE-D-21-03376
- Validation of quantitative assessment of indocyanine green fluorescent imaging in a one-vessel model. **Duprée A**, Rieß HC, von Kroge PH, Izbicki JR, Debus ES, Mann O, Pinnschmidt HO, Russ D, Detter C, Wipper SH. PLoS One. 2020 Nov 18;15(11):e0240188. doi: 10.1371/journal.pone.0240188. eCollection 2020. PMID: 33206647
- [Fluorescence angiography for esophageal anastomoses: Perfusion evaluation of the gastric conduit with indocyanine green]. **Duprée A**, von Kroge PH, Izbicki JR, Wipper SH, Mann O. Chirurg. 2019 Nov;90(11):875-879. doi: 10.1007/s00104-019-01021-9. PMID: 31471660
- Utilization of indocyanine green fluorescent imaging (ICG-FI) for the assessment of microperfusion in vascular medicine. **Duprée A**, Rieß H, Detter C, Debus ES, Wipper SH. Innov Surg Sci. 2018 Sep 5;3(3):193-201. doi: 10.1515/iss-2018-0014. eCollection 2018 Sep. PMID: 31579783
- The Effects of Pancreatic Microcirculatory Disturbances on Histopathologic Tissue Damage and the Outcome in Severe Acute Pancreatitis. Tomkötter L, Erbes J, Trepte C, Hinsch A, **Duprée A**, Bockhorn M, Mann O, Izbicki JR, Bachmann K. Pancreas. 2016 Feb;45(2):248-53. doi: 10.1097/MPA.0000000000000440. PMID: 26646271
- Impact of hybrid thoracoabdominal aortic repair on visceral and spinal cord perfusion: The new and improved SPIDER-graft. Wipper S, Kölbel T, Sandhu HK, Manzoni D, Duprée A, Estrera AL, Safi H, Miller CC 3rd, Tsilimparis N, Debus ES. J Thorac Cardiovasc Surg. 2019 Sep;158(3):692-701. doi: 10.1016/j.jtcvs.2018.11.133. Epub 2018 Dec 15. PMID: 30745044
- Feasibility Study of a Novel Thoraco-abdominal Aortic Hybrid Device (SPIDER-graft) in a Translational Pig Model. Debus ES, Kölbel T, Duprée A, Daum G, Sandhu HK, Manzoni D, Wipper SH. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2018 Feb;55(2):196-205. doi: 10.1016/j.ejvs.2017.11.018. Epub 2017 Dec 28. PMID: 29290476
- Volume Based Resuscitation and Intestinal Microcirculation after Ischaemia/Reperfusion Injury: Results of an Exploratory Aortic Clamping Study in Pigs. Behem CR, Graessler MF, Pinnschmidt HO, Duprée A, Sandhu HK, Debus ES, Wipper SH, Trepte C. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2019 Feb;57(2):284-291. doi: 10.1016/j.ejvs.2018.08.055. Epub 2018 Oct 9. PMID: 30309783

- Effects of hydroxyethyl starch and cell-free hemoglobin on microcirculation, tissue oxygenation, and survival in severe acute porcine pancreatitis: results of a randomized experimental trial. Bachmann K, Freitag M, Lohalm H, Tomkötter L, **Dupree A**, Koops S, Strate T, Izbicki JR, Mann O. *Pancreas*. 2014 Aug;43(6):855-62. doi: 10.1097/MPA.000000000000146. PMID: 24809409
- Initial experience with a new quantitative assessment tool for fluorescent imaging in peripheral artery disease. Rieß HC, **Duprée A**, Behrendt CA, Kölbl T, Debus ES, Larena-Avellaneda A, Russ D, Wipper S. *Vasa*. 2017 Aug;46(5):383-388. doi: 10.1024/0301-1526/a000642. Epub 2017 Jun 14. PMID: 28613118
- Laparoscopic lymph node sampling: a new concept for patients with high-risk early esophagogastric junction cancer resected endoscopically. **Dupree A**, Ehlken H, Rösch T, Lüken M, Reeh M, Werner YB, de Heer J, Schachschal G, Clauditz T, Mann O, Izbicki J, Groth S.; *Gastrointest Endosc*. 2021 Feb 24:S0016-5107(21)00135-8. doi: 10.1016/j.gie.2021.02.014. Online ahead of print. PMID: 33639136
- Perioperative Short-Term Outcome in Super-Super-Obese Patients Undergoing Bariatric Surgery. **Duprée A**, El Gammal AT, Wolter S, Urbanek S, Sauer N, Mann O, Busch P. *Obes Surg*. 2018 Jul;28(7):1895-1901. doi: 10.1007/s11695-018-3118-y. PMID: 29404937
- Cost-utility analysis of bariatric surgery compared with conventional medical management in Germany: a decision analytic modeling. Borisenko O, Mann O, **Duprée A**. *BMC Surg*. 2017 Aug 3;17(1):87. doi: 10.1186/s12893-017-0284-0. PMID: 28774333
- [Fluorescence angiography for esophageal anastomoses : Perfusion evaluation of the gastric conduit with indocyanine green]. **Duprée A**, von Kroge PH, Izbicki JR, Wipper SH, Mann O. *Chirurg*. 2019 Nov;90(11):875-879. doi: 10.1007/s00104-019-01021-9. PMID: 31471660
- The value of CT imaging and CRP quotient for detection of postbariatric complications. **Duprée A**, de Heer J, Tichby M, Ghadban T, Mann O, Grupp K, Pinnschmidt HO, Izbicki JR, Wolter S. *Langenbecks Arch Surg*. 2020 Sep 17. doi: 10.1007/s00423-020-01986-w. Online ahead of print. PMID: 32944801
- Surgical Management of Non-Malignant Esophageal Perforations: A Single-Center Analysis Over a 15-Year Period. Karstens KF, Bellon E, Tachezy M, Izbicki JR, Ghadban T, **Duprée A**, Uzunoglu FG, Bachmann K, Koenig A, Reeh M. *Dig Surg*. 2020;37(4):302-311. doi: 10.1159/000504342. Epub 2019 Nov 27. PMID: 31775154

- Esophageal carcinoma cell line with high EGFR polysomy is responsive to gefitinib. Drenckhan A, Grob T, **Dupree A**, Dohrmann T, Mann O, Izbicki JR, Gros SJ. *Langenbecks Arch Surg.* 2014 Oct;399(7):879-88. doi: 10.1007/s00423-014-1235-1. Epub 2014 Jul 29. PMID: 25070024
- Duodenal Electric Stimulation: Results of a First-in-Man Study. Aberle J, Busch P, Veigel J, **Duprée A**, Roesch T, zu Eulenburg C, Paschen B, Scholz BM, Wolter S, Sauer N, Ludwig K, Izbicki J, Mann O. *Obes Surg.* 2016 Feb;26(2):369-75. doi: 10.1007/s11695-015-1774-8. PMID: 26112135
- The Effects of Pancreatic Microcirculatory Disturbances on Histopathologic Tissue Damage and the Outcome in Severe Acute Pancreatitis. Tomkötter L, Erbes J, Trepte C, Hinsch A, **Dupree A**, Bockhorn M, Mann O, Izbicki JR, Bachmann K. *Pancreas.* 2016 Feb;45(2):248-53. doi: 10.1097/MPA.0000000000000440. PMID: 26646271
- Influence of Liver Disease on Perioperative Outcome After Bariatric Surgery in a Northern German Cohort. Wolter S, **Duprée A**, Coelius C, El Gammal A, Kluwe J, Sauer N, Mann O. *Obes Surg.* 2017 Jan;27(1):90-95. doi: 10.1007/s11695-016-2253-6. PMID: 27272667
- Anesthetic considerations for patients with esophageal achalasia undergoing peroral endoscopic myotomy: a retrospective case series review. Löser B, Werner YB, Punke MA, Saugel B, Haas S, Reuter DA, Mann O, **Duprée A**, Schachschal G, Rösch T, Petzoldt M. *Can J Anaesth.* 2017 May;64(5):480-488. doi: 10.1007/s12630-017-0820-5. Epub 2017 Jan 23. PMID: 28116675
- Upper Gastrointestinal Endoscopy prior to Bariatric Surgery-Mandatory or Expendable? An Analysis of 801 Cases. Wolter S, Duprée A, Miro J, Schroeder C, Jansen MI, Schulze-Zur-Wiesch C, Groth S, Izbicki J, Mann O, Busch P. *Obes Surg.* 2017 Aug;27(8):1938-1943. doi: 10.1007/s11695-017-2622-9. PMID: 28243860
- Intraoperative Ventilation of Morbidly Obese Patients Guided by Transpulmonary Pressure. Eichler L, Truskowska K, Dupree A, Busch P, Goetz AE, Zöllner C. *Obes Surg.* 2018 Jan;28(1):122-129. doi: 10.1007/s11695-017-2794-3. PMID: 28707173
- Mentorship Programs in Bariatric Surgery Reduce Perioperative Complication Rate at Equal Short-Term Outcome-Results from the OPTIMIZE Trial. Wolter S, Duprée A, ElGammal A, Runkel N, Heimbucher J, Izbicki JR, Mann O, Busch P. *Obes Surg.* 2019 Jan;29(1):127-136. doi: 10.1007/s11695-018-3495-2. PMID: 30187421
- Impact of hybrid thoracoabdominal aortic repair on visceral and spinal cord perfusion: The new and improved SPIDER-graft. Wipper S, Kölbel T, Sandhu HK, Manzoni D, Duprée A, Estrera AL, Safi H, Miller CC 3rd, Tsilimparis N, Debus ES. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2019 Sep;158(3):692-701. doi: 10.1016/j.jtcvs.2018.11.133. Epub 2018 Dec 15. PMID: 30745044
-

- Antibiotic sensitivity in correlation to the origin of secondary peritonitis: a single center analysis. Grotelüschen R, Heidelmann LM, Lütgehetmann M, Melling N, Reeh M, Ghadban T, **Dupree A**, Izbicki JR, Bachmann KA. *Sci Rep.* 2020 Oct 29;10(1):18588. doi: 10.1038/s41598-20-73356-x. PMID: 33122689
- Feasibility Study of a Novel Thoraco-abdominal Aortic Hybrid Device (SPIDER-graft) in a Translational Pig Model. Debus ES, Kölbel T, **Duprée A**, Daum G, Sandhu HK, Manzoni D, Wipper SH. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2018 Feb;55(2):196-205. doi: 10.1016/j.ejvs.2017.11.018. Epub 2017 Dec 28. PMID: 29290476
- Volume Based Resuscitation and Intestinal Microcirculation after Ischaemia/Reperfusion Injury: Results of an Exploratory Aortic Clamping Study in Pigs. Behem CR, Graessler MF, Pinnschmidt HO, **Duprée A**, Sandhu HK, Debus ES, Wipper SH, Trepte CJ. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2019 Feb;57(2):284-291. doi: 10.1016/j.ejvs.2018.08.055. Epub 2018 Oct 9. PMID: 30309783
- Effects of hydroxyethyl starch and cell-free hemoglobin on microcirculation, tissue oxygenation, and survival in severe acute porcine pancreatitis: results of a randomized experimental trial. Bachmann K, Freitag M, Lohalm H, Tomkötter L, **Dupree A**, Koops S, Strate T, Izbicki JR, Mann O. *Pancreas.* 2014 Aug;43(6):855-62. doi: 10.1097/MPA.000000000000146. PMID: 24809409
- Initial experience with a new quantitative assessment tool for fluorescent imaging in peripheral artery disease. Rieß HC, **Duprée A**, Behrendt CA, Kölbel T, Debus ES, Larena-Avellaneda A, Russ D, Wipper S. *Vasa.* 2017 Aug;46(5):383-388. doi: 10.1024/0301-1526/a000642. Epub 2017 Jun 14. PMID: 28613118

Listung der bisher eingeworbenen begutachteten Drittmittel

Sehr geehrte Damen und Herren,

Hiermit versichere ich, Simone Verena Müller, dass das Forschungsprojekt bisher noch nicht mit anderen eingeworbenen begutachteten Drittmitteln gefördert wird.

A handwritten signature in black ink that reads "Simone Müller". The signature is written in a cursive style with a large initial 'S'.

Hamburg, 26.07.2021