

Aus der Klinik für Nephrologie und Internistische Intensivmedizin,  
Campus Virchow Klinikum  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Molekulare Pathomechanismen osteoblastärer  
Differenzierung bei Urämie: Tumor-Nekrose-Faktor-alpha  
induziert über extrazellulär aktivierte Kinasen und  
Aktivatorprotein 1/cFOS eine Induktion von Interleukin-6-  
Expression

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Christian Lücht  
aus Kaltenkirchen

Datum der Promotion: 01.03.2019

# Inhaltsverzeichnis

Datum der Promotion: 01.03.2019 .....	1
<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	2
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	3
<b>1 Zusammenfassung auf Deutsch</b> .....	4
1.1 Hintergrund .....	4
1.2 Methodik .....	4
1.3 Ergebnisse .....	4
1.4 Schlussfolgerung .....	4
<b>2 Abstract</b> .....	5
2.1 Introduction .....	5
2.2 Methods .....	5
2.3 Results .....	5
2.4 Conclusion .....	5
<b>3 Eidesstattliche Versicherung</b> .....	6
<b>4.1 Eigene Anteilserklärung</b> .....	7
4.1.1 Konzeption und Patientenakquisition .....	7
4.1.2 Vorversuche .....	7
4.1.3 Genexpressions- und Proteinanalyse .....	7
4.1.4 DNA-Konstrukte und Reporterplasmide .....	7
4.1.5 Transiente Transfektion von VSMCs und IL-6-Promotor-Luciferaseassays .....	7
4.1.6 Elektro-Mobility-Shift-Assays (EMSA) .....	8
4.1.7 Zytokinmessungen .....	8
4.1.8 Statistische Analyse und Ergebnisinterpretation .....	8
4.1.9 Manuskript und Korrespondenz .....	8
<b>4.2 Anteilserklärung des Koautors Dr. Daniel Zickler</b> .....	9
4.2.1 Studiendesign und Patientenaquisition .....	9
4.2.2 Manuskript und Review .....	9
<b>5 Auszug aus ISI Web of Knowledge<sup>SM</sup></b> .....	10
<b>6 Druckversion der Originalarbeit</b> .....	11
6.1 Anmerkung des Autors .....	11
<b>7 Curriculum vitae</b> .....	23
<b>8. Publikationsliste</b> .....	25
8.1 Originalarbeiten .....	25
8.2 Kongressbeiträge .....	25
<b>9 Danksagung</b> .....	27

## Abkürzungsverzeichnis

AP	Activator Protein
cDNA	coding Desoxyribonukleinsäure
ELISA	Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assay
EMSA	Electro-Mobility-Shift-Assay
ERK	Extracellular-signal Regulated Kinase
ESRD	End-Stage-Renal-Disease/terminale Niereninsuffizienz
HLA	Human Leukocyte Antigen
IL-6	Interleukin 6
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MSC	Mesenchymale Stammzelle
OT	Osteoblastic Transition/osteochondroblastäre Umwandlung
PCR	Polymerase-Chain-Reaction
qrt	quantitative Echtzeit-PCR
sIL-6R	soluble Interleukin-6-Rezeptor
TNF- $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor-alpha
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VM	Vascular Mineralization/vaskuläre Mineralisierung
VSMC	Vascular smooth muscle cells/glatte Gefäßmuskelzellen

# 1 Zusammenfassung auf Deutsch

## 1.1 Hintergrund

Dialysepflichtige Patienten mit fortgeschrittenem, chronischem Nierenversagen haben eine hohe Morbidität und Mortalität aufgrund häufiger kardio-vaskulärer Ereignisse. Traditionell mit diesem Krankheitsbild assoziierte Risikofaktoren wie Dyslipidämie und arterielle Hypertonie erklären dies nur unzureichend. Dialysepatienten zeigen einen beschleunigten arteriosklerotischen Gefäßumbau und arterielle Gefäßmineralisierung, welche die Funktionalität der Gefäße stark beeinträchtigen. Der pathologische Prozess der osteochondroblastären Transition und nachfolgenden Mineralisierung von humanen glatten Gefäßmuskelzellen (VSMCs) in der arteriellen Tunica Media wird möglicherweise durch Urämietoxine ausgelöst, die sich bei Dialysepatienten vermehrt im Blut ansammeln. In der vorliegenden Arbeit wurden zugrundeliegende, molekulare Mechanismen dieser Mineralisierung aufgeklärt, um neue Behandlungsstrategien zu entwickeln.

## 1.2 Methodik

Urämische Seren von 14 Dialysepatienten, die im Rahmen der „Permeability Enhancement to Reduce Chronic Inflammation“ (PERCI-I)-Studie rekrutiert worden waren, wurden auf die proinflammatorischen Biomarker Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin-6 (IL-6) als Mediatoren urämieinduzierter Inflammation mittels ELISA getestet und mit Seren gesunder Kontrollen verglichen. Mechanistische Untersuchungen zur transkriptionellen Regulation von IL-6 erfolgten mittels Promotor-Deletions-Analysen und Elektro-Mobility-Shift-Assays in VSMCs, die mit gepoolten urämischen bzw. Kontrollseren oder TNF- $\alpha$  stimuliert wurden. Die Spezifität des dabei identifizierten Transkriptionsfaktors wurde durch pharmakologische Inhibierungsexperimente überprüft und Westernblots zur Untersuchung der upstream Signaltransduktion abgeschlossen. Spezifische - an der osteochondroblastären Transition beteiligte - Gene wurden mittels real-time PCR analysiert. Alkalische Phosphatase-messungen und Kalzifizierungsassays dienten zur funktionellen Untersuchung der VSMC-Mineralisierung.

## 1.3 Ergebnisse

Im Vergleich zu gesunden Kontrollen zeigten Seren urämischer Patienten signifikant erhöhte Spiegel von TNF- $\alpha$  und IL-6. In VSMCs induzierte urämisches Serum eine TNF- $\alpha$ -abhängige IL-6-Induktion sowie eine osteochondroblastäre Transition und signifikante Mineralisierung. Dies wurde über die extrazelluläre-signal-regulierte Kinase-1 (ERK-1) und den Aktivierungs-Protein-1 (AP-1) / c-FOS-Transkriptionsfaktorkomplex vermittelt, welcher im IL-6-Promotor bindet. Die pharmakologische Inhibition von TNF- $\alpha$ , IL-6, ERK-1 und AP-1/cFOS reduzierte die osteochondroblastäre Transition und Mineralisierung und verbesserte das Zellüberleben.

## 1.4 Schlussfolgerung

Die urämiebedingte, chronische Inflammation bei Dialysepatienten geht mit einer systemischen Erhöhung von TNF $\alpha$  und IL-6 einher. Insbesondere die TNF- $\alpha$ -induzierte IL-6-Produktion in VSMCs wurde als neuer entscheidender Faktor der vaskulären Mineralisierung in VSMCs identifiziert. Eine auf den spezifischen Patienten abgestimmte, pharmakologische Blockade von TNF- $\alpha$  und IL-6 könnte somit neben dem Einsatz neuartiger Dialysemembranen mit verbesserter Elimination urämischer Toxine eine interessante, neuartige Therapieoption zur Reduktion der Gefäßmineralisierung bei Hämodialysepatienten darstellen.

## **2 Abstract**

### **2.1 Introduction**

Patients under dialysis-treatment for end-stage renal disease (ESRD) display a highly increased cardio-vascular morbidity and mortality but risk-factors traditionally associated with ESRD such as dyslipidemia and arterial hypertension fail to fully explain this phenomenon. Vascular function is impaired in those patients since arteriosclerotic processes such as osteoblastic transition (OT) and subsequent vascular mineralization (VM) are accelerated in chronic dialysis. OT and VM are predominantly located in vascular smooth muscle cells (VSMCs) of the arterial tunica media and are triggered by uremic toxins, which are elevated in ESRD-patients. Aim of this study was to assess molecular pathomechanisms of OT and VM in VSMCs to identify potential treatment-options.

### **2.2 Methods**

Uremic sera from 14 patients with ESRD recruited within the “Permeability Enhancement to Reduce Chronic Inflammation” (PERCI-I)-trial at the dialysis centre of Charité-Universitätsmedizin Berlin, were compared to sera from healthy controls regarding proinflammatory biomarkers tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 6 (IL-6) by ELISA.

Genetic studies of the IL-6 promotor with promotor-deletion-assays and Electro-Mobility-Shift-Assays together with experiments with pharmacological inhibitors to characterize signaling pathways in VSMCs with pooled uremic and control sera of TNF- $\alpha$  were conducted. In addition, gene expression studies with markers for OT and determination of alkaline phosphatase as well as calcification assays were performed to study VSMC-mineralization.

### **2.3 Results**

When compared with healthy controls, predialytic sera showed significantly increased levels of TNF- $\alpha$  and IL-6. Importantly, VSMCs demonstrated a TNF- $\alpha$ -mediated IL-6-induction in response to uremic sera, which was dependent on the Extracellular-signal-Regulated-Kinase-1 (ERK-1) and the Activator-Protein-1 (AP-1)/c-FOS complex transcription factor binding to the IL-6-promotor.

In vitro, TNF- $\alpha$  and IL-6 strongly induced calcification of VSMCs and pharmacological inhibition of TNF- $\alpha$ , IL-6, ERK-1 and AP-1/cFOS reduced OT, mineralization and improved cell-survival.

### **2.4 Conclusion**

Uremia in ESRD is characterized by a state of chronic inflammation with systemically elevated levels of TNF- $\alpha$  and IL-6. This is the first study to elucidate underlying pathomechanisms of OT and VM in humans identifying TNF- $\alpha$ -induced IL-6-production as an important new factor. This process could be further characterized by signaling via ERK-1 and AP-1/cFOS. Personalized pharmacological inhibition of TNF- $\alpha$  and IL-6 in patients with ESRD appears to be promising to reduce OT and VM and improve cardio-vascular-outcomes in those patients. Therefore, clinical studies should be encouraged to assess TNF- $\alpha$ -, and IL-6-inhibition as well as the use of dialysis membranes with improved clearance of uremic toxins.

### 3 Eidesstattliche Versicherung

Ich, Christian Lücht, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Molekulare Pathomechanismen osteoblastärer Differenzierung bei Urämie: Tumor-Nekrose-Faktor-alpha induziert über extrazellulär aktivierte Kinasen und Aktivatorprotein 1/cFOS eine Induktion von Interleukin-6-Expression“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben ist. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

## **4.1 Eigene Anteilserklärung**

Durch folgende Beiträge konnte ich die geteilte Erstautorenschaft der vorliegenden Publikation „Tumour necrosis factor-alpha in uraemic serum promotes osteoblastic transition and calcification of vascular smooth muscle cells via extracellular signal-regulated kinases and activator protein 1/c-FOS-mediated induction of interleukin 6 expression“, erschienen 2017 in „Nephrology Dialysis and Transplantation“ erwerben:

### **4.1.1 Konzeption und Patientenakquisition**

In Zusammenarbeit mit Herrn Doktor Catar (RC) und der Studienschwester Frau Kämper war ich für die Aufarbeitung und Katalogisierung der Serumproben aus der von Herrn Doktor Zickler (DZ) geleiteten PERCI-I-Studie sowie der Gewinnung und Verarbeitung der Serumproben der Kontrollgruppe zuständig. Die Rekrutierung und Aufklärung der Patienten für die Studie erfolgte durch DZ.

Basierend auf den Studienergebnissen der erhöhten IL-6 und TNF- $\alpha$  Spiegel in urämischen Seren entwickelte ich in Zusammenarbeit mit RC die Fragestellung meiner Dissertation, wie diese Genregulation auf molekularer Ebene stattfindet, welche Signalwege daran beteiligt sind und ob sich daraus funktionelle Veränderungen der osteochondroblastären Transition und Mineralisierung von VSMCs ergeben.

### **4.1.2 Vorversuche**

Zunächst etablierte ich das VSMC Zellkulturmodell zur TNF- $\alpha$  induzierten IL-6 Genexpression und Proteinfreisetzung mit Zeit- und Dosisreihen von TNF- $\alpha$ , sowie Konzentrationsbestimmung und Inkubationszeiten pharmakologischer Inhibitoren.

Zudem war ich an der Isolation mesenchymaler Stammzellen (MSCs) (vgl. „Introduction“ der Veröffentlichung) beteiligt.

Die Einarbeitung in Zellkulturen erfolgte durch RC; Guido Moll (GM) war maßgeblich für die MSC-Isolation verantwortlich.

### **4.1.3 Genexpressions- und Proteinanalyse**

Nach Einarbeitung in die mRNA-Isolation, Transkription in cDNA und qrt-PCR-Versuche durch RC führte ich diese selbstständig durch. Die entsprechenden Ergebnisse sind in der Abbildung 4B dargestellt. Darüber hinaus führte ich die Zellkulturexperimente mit Stimulationen mit urämischem Serum +/- TNF- $\alpha$  Inhibitor, Gewinnung der Zelllysate und Immunoblots durch. Diese Ergebnisse finden sich in Abb. 1D und 4C meiner Publikation.

Die aus diesen Experimenten gewonnenen Erkenntnisse konnten für die Planung und Durchführung der in Abb. 5 dargestellten Bestimmung der Kalzifizierungsmarker und deren Regulation genutzt werden.

### **4.1.4 DNA-Konstrukte und Reporterplasmide**

Die Plasmide der IL-6-Deletionsreihe wurden nach Einarbeitung durch RC von mir generiert. Dabei optimierte ich die PCR-Bedingungen mit anschließender Aufreinigung, Konzentrationsbestimmungen, Restriktionsverdau sowie Vorbereitung zur externen Sequenzierung.

### **4.1.5 Transiente Transfektion von VSMCs und IL-6-Promotor-Luciferaseassays**

Auch die anschließende transiente Transfektion der VSMCs mit den gewonnenen Plasmiden sowie die Messungen der Promotoraktivierung führte ich alleine durch. Diese Ergebnisse sind in Abbildung 1C, 1E und 2A dargestellt.

#### **4.1.6 Elektro-Mobility-Shift-Assays (EMSA)**

Die aus den Ergebnissen der IL-6-Promotor-Luziferase-Aktivierungsstudien bestimmten Promotorregionen nutzte ich für eine in-silico-Analyse und traf zusammen mit RC die Auswahl der zu untersuchenden Transkriptionsfaktoren. Die anschließenden EMSAs führte ich eigenständig durch. Das repräsentative Ergebnis zeigt die Abbildung 2B.

#### **4.1.7 Zytokinmessungen**

Die Konzentrationsmessungen für IL-6 und TNF- $\alpha$  finden sich in Abb. 1A und 1C. Dafür führte ich die ELISA zur IL-6-Konzentrationsbestimmung eigenständig durch. Die Messungen, der von mir generierten Proben für die TNF- $\alpha$  Bestimmung, erfolgten durch Lei Chen (LC).

#### **4.1.8 Statistische Analyse und Ergebnisinterpretation**

Die oben genannten Experimente und deren Ergebnisse wurden von mir statistisch unter Verwendung der GraphPadPrism-Software analysiert, mit RC besprochen und anschließend graphisch dargestellt.

#### **4.1.9 Manuskript und Korrespondenz**

Die Erstellung des Manuskriptes erfolgte hauptsächlich durch RC, GM und DZ. Ich erstellte die Grafiken zu oben genannten Abbildungen und konnte durch Beiträge zu den Abschnitten „Einleitung“ und „Diskussion“ und insbesondere in der Bearbeitung der Kommentare in der Revision wesentlich zum Erfolg der Publikation beitragen.

---

Unterschrift, Datum und Stempel der betreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift des Doktoranden



## **4.2 Anteilserklärung des Koautors Dr. Daniel Zickler**

Ich konnte folgende Beiträge zur Publikation „Tumour necrosis factor-alpha in uraemic serum promotes osteoblastic transition and calcification of vascular smooth muscle cells via extracellular signal-regulated kinases and activator protein 1/c-FOS-mediated induction of interleukin 6 expression“ leisten:

### **4.2.1 Studiendesign und Patientenaquisition**

Die in der Studie genutzten Patientenseren stammen aus der „Permeability Enhancement to Reduce Chronic Inflammation“-Studie. Diese wurde von mir konzipiert, durchgeführt und zu weiten Teilen geleitet.

Somit oblag mir die Aufsicht über die Einhaltung der Studienprotokolle. Es war meine Aufgabe, eine adäquate Aufklärung der Patienten und die Einhaltung ethischer Richtlinien, sowie die korrekte Abnahme, Lagerung und Prozessierung der Serumproben sicherzustellen.

### **4.2.2 Manuskript und Review**

Als Erstautor konnte ich zudem wesentliche Beiträge zur schriftlichen Fassung der Publikation leisten. Die erste Version des Manuskriptes wurde von mir konzipiert und mitverfasst und im Weiteren wurden Teile durch mich überarbeitet. Zusätzlich übernahm ich neben der Koordination der Teilschritte auch die Korrespondenz mit der Fachzeitschrift und konnte so eine zeitnahe Bearbeitung der Revision erreichen.

---

Unterschrift des Koautors

## 5 Auszug aus ISI Web of KnowledgeSM

Journal Data Filtered By: Selected JCR Year: 2016  
 Selected Editions: SCIE,SSCI  
 Selected Categories: "UROLOGY and NEPHROLOGY"  
 Selected Category Scheme: WoS  
 Gesamtanzahl: **76 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	EUROPEAN UROLOGY	27,172	16.265	0.066790
2	Nature Reviews Nephrology	3,710	12.146	0.014830
3	JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF NEPHROLOGY	35,795	8.966	0.054330
4	KIDNEY INTERNATIONAL	41,438	8.395	0.055150
5	Nature Reviews Urology	2,439	7.735	0.007720
6	AMERICAN JOURNAL OF KIDNEY DISEASES	21,660	7.623	0.032640
7	Kidney International Supplements	1,501	5.593	0.007290
8	JOURNAL OF UROLOGY	49,702	5.157	0.055450
9	Clinical Journal of the American Society of Nephrology	14,077	4.780	0.035400
10	NEPHROLOGY DIALYSIS TRANSPLANTATION	24,509	4.470	0.041050
11	BJU INTERNATIONAL	19,691	4.338	0.034390
12	PROSTATE	7,638	3.820	0.011850
13	UROLOGIC ONCOLOGY-SEMINARS AND ORIGINAL INVESTIGATIONS	4,321	3.767	0.012890
14	PROSTATE CANCER AND PROSTATIC DISEASES	1,751	3.723	0.004540
15	AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-RENAL PHYSIOLOGY	16,787	3.611	0.022770
16	SEMINARS IN NEPHROLOGY	2,590	3.598	0.005350
⋮				
76	UROLOGE	595	0.289	0.000580

## **6 Druckversion der Originalarbeit**

Die Printversion der Originalarbeit unterliegt dem Copyright des Verlages und ist unter folgender DOI verlinkt:

<https://doi.org/10.1093/ndt/gfx316>

### **6.1 Anmerkung des Autors**

Die besondere Qualität der neuartigen Ergebnisse dieser Doktorarbeit wurden von dem wissenschaftlichen Journal Nephrology Dialysis Transplantation (NDT) in einem 6-seitigen Editorial hervorgehoben: Lucie Hénaut and Ziad A Massy „New insights into the key role of interleukin 6 in vascular calcification of chronic kidney disease“ NDT (2018) 1-6: doi: 10.1093/ndt/gfx379

## **7 Curriculum vitae**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 8. Publikationsliste

### 8.1 Originalarbeiten

*Tumour necrosis factor-alpha in uraemic serum promotes osteoblastic transition and calcification of vascular smooth muscle cells via extracellular signal-regulated kinases and activator protein 1/c-FOS-mediated induction of interleukin 6 expression.*

Zickler D\*, **Luecht C\***, Willy K, Chen L, Witowski J, Girndt M, Fiedler R, Storr M, Kamhieh-Milz J, Schoon J, Geissler S, Ringdén O, Schindler R, Moll G, Dragun D, Catar R

Journal: Nephrology Dialysis Transplantation (2017)

Impact-Faktor (2017): 4,470

\*Both authors contributed equally to this study.

*IL-6 Trans-Signaling Links Inflammation with Angiogenesis in the Peritoneal Membrane*

Catar R, Witowski J, Zhu N, **Lücht C**, Derrac Soria A, Uceda Fernandez J, Chen L, Jones SA, Fielding CA, Rudolf A, Topley N, Dragun D, Jörres A

Journal: Journal of the American Society of Nephrology

Impact-Faktor (2016): 8,966

*Different Procoagulant Activity of Therapeutic Mesenchymal Stromal Cells Derived from Bone Marrow and Placental Decidua.*

Moll G, Ignatowicz L, Catar R, **Luecht C**, Sadeghi B, Hamad O, Jungebluth P, Dragun D, Schmidtchen A, Ringdén O

Journal: Stem Cells and Development (2016)

Impact-Faktor (2016): 3,562

### 8.2 Kongressbeiträge

#### ASN Kidney week 2015

03.11.-08.11 2015, San Diego

*IL-6 Induces VEGF Production by Human Peritoneal Mesothelial Cells During Peritonitis Through SP4-Mediated Trans-Signaling with sIL-6R (Poster)*

Rusan Catar, Janusz Witowski, Nan Zhu, **Christian Luecht**, Andras Rudolf, Duska Dragun, Achim Joerres

#### American Transplant Congress 2015

02-06.05.2015 Philadelphia, PA

*Pro-inflammatory actions of new non-HLA antibodies targeting Protease-activated receptor (PAR-1) (Poster of distinction)*

Rusan Catar, PhD, **Christian Luecht**, Michele Simon, Aurelie Philippe, PhD, Angelika Kusch, MD, Michal Szczepek, PhD, Peter Hildebrand, PhD, Patrick Scheerer, PhD and Duska Dragun, Prof. MD

#### 7. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie

12. - 15.09.2015, Berlin

*Protease-aktivierter Rezeptor (PAR-1) Antikörper, ein neuer non-HLA Antikörper mit proinflammatorischen Wirkungen (Poster)*

**Christian Luecht**, Rusan Catar, PhD, Michele Simon, Aurelie Philippe, PhD, Angelika Kusch, MD, Michal Szczepek, PhD, Peter Hildebrand, PhD, Patrick Scheerer, PhD and Duska Dragun, Prof. MD

#### 12th European Peritoneal Dialysis Meeting

02.-05.10. 2015, Krakau, Polen

*Effect of IL-6 trans-signalling on VEGF production by human peritoneal mesothelial cells (Vortrag)*

Rusan Catar, Nan Zhu , **Christian Lücht** , Andras Rudolf , Duska Dragun , Achim Jörres , Janusz Witowski

#### 24. Jahrestagung der DTG

22. - 24.10.2015, Dresden

*Protease-activated receptor (PAR-1) antibody, a new non-HLA antibody with pro-inflammatory actions*

**Christian Luecht**, Rusan Catar, PhD , Michele Simon, Aurelie Philippe, PhD, Angelika Kusch, MD, Michal Szczepek, PhD, Peter Hildebrand, PhD, Patrick Scheerer, PhD and Duska Dragun, Prof. MD

(Posterpreis)

#### 28<sup>th</sup> European Student´s Conference

27.-30.09.2017, Berlin

*Pro-inflammatory actions of new non-HLA antibodies targeting Protease-activated receptor (PAR-1) (Poster of distinction)*

Rusan Catar, PhD, **Christian Luecht**, Michele Simon, Aurelie Philippe, PhD, Angelika Kusch, MD, Michal Szczepek, PhD, Peter Hildebrand, PhD, Patrick Scheerer, PhD and Duska Dragun, Prof. MD

(Poster und Vortrag)

## 9 Danksagung

Ich möchte mich bei meiner Doktormutter Frau Professor Doktor Dragun bedanken. In den letzten Jahren konnte ich sehr viel lernen und von ihrer Unterstützung sehr profitieren. Ihre Arbeit und ihr persönlicher Einsatz für die Forschung und Nachwuchsförderung bleiben eine ständige Inspiration und Motivation.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Doktor Rusan Catar, der zu jeder Tages- und Nachtzeit für Rückfragen zur Verfügung stand und dessen Geduld ich nicht genug wertschätzen kann. Seine kompetente Anleitung in unterschiedlichster Methodik ist beispiellos. Durch ihn konnte ich die Freude am wissenschaftlichen Arbeiten erst entwickeln.

Außerdem möchte ich mich für die Förderung durch das Berliner Institut für Gesundheitsforschung (BIH) bedanken. Ohne diese Unterstützung wäre meine Arbeit so nicht möglich gewesen.

Die gesamte Arbeitsgruppe (AG Dragun) hat mich herzlich aufgenommen. Für die produktive Zusammenarbeit bin ich sehr dankbar. Insbesondere Frau Doktor Angelika Kusch sowie Frau Doktor Aurélie Philippe konnten mir durch kritische Fragen und hilfreiche Anmerkungen bei Präsentationen, Vorträgen und Verfassen dieser Arbeit immens helfen.

Guido Moll hat mir eine neue Perspektive auf meine Arbeit ermöglicht und mir insbesondere beim Formulieren meiner Ergebnisse sehr geholfen. Ich hoffe, der Kontakt jenseits der Arbeitsgruppe bleibt weiterhin bestehen.

Ich danke meinen Ko-Autoren, insbesondere Herrn Doktor Daniel Zickler für die Möglichkeit der Kooperation, die geteilte Erstautorenschaft und die gute Zusammenarbeit bei der Verfassung des Manuskriptes.

Ebenso gilt mein Dank meinen Freunden, die mich während langer Labortage mit Mahlzeiten versorgt haben und mich daran erinnern konnten, dass es auch andere Dinge als Zellkulturen zu pflegen gilt.

Während der gesamten Arbeit konnte ich mich immer auf die Unterstützung meiner Eltern verlassen. Vom ersten Lebenstag bis zum heutigen Tag kann ich mich glücklich schätzen, Teil dieser Familie zu sein. Meine Geschwister sind ein wichtiger Teil meines Lebens und konnten mir bei der Korrektur dieser Arbeit wertvolle Hilfe leisten.

Mein Dank gilt außerdem meiner Freundin, deren Verständnis, Hilfe und Gedanken ich immer wieder bewundere. Ich schätze mich sehr glücklich.