

DG PARO/meridol®-Forschungsförderung 2023

Projektantrag

„Einfluss inflammatorischer Exosomen des Parodonts auf die Tumorproliferation und die medikamentöse Tumortherapie in vitro“

Dr. med. dent. Daniel Diehl

Lehrstuhl für Parodontologie, Department für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Weiterbildungsassistent
Lehrstuhl für Pharmakologie und Toxikologie, Department für Humanmedizin
Doktorand (Ph.D. Biomedizin)
Fakultät für Gesundheit
Universität Witten/Herdecke
Stockumer Straße 10
58453 Witten
Tel.: 02302-926 302
E-Mail: daniel.diehl@uni-wh.de

Prof. Dr. Anton Friedmann

Lehrstuhl für Parodontologie, Department für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Fakultät für Gesundheit
Universität Witten/Herdecke
E-Mail: Anton.Friedmann@uni-wh.de

Zusammenfassung

Parodontitis ist eine opportunistische Infektionserkrankung, welche mit progressiver Gewebsdestruktion des Zahnhalteapparates und einer Vielzahl adverser Krankheitseffekte auf den Organismus einhergeht. Vor allem die Assoziation mit malignen Erkrankungen ist bis heute zwar gut dokumentiert, allerdings ist der genaue Pathomechanismus dieser Assoziation bisweilen nicht ausreichend erforscht worden. Bisherige Konzepte schreiben jedoch chronisch-entzündlichen Mediatoren eine anti-apoptotische und proliferative Wirkung auf Tumorzellen durch die Aktivierung pro-inflammatorischer Signalwege zu.

Extrazelluläre Vesikel (EV) sind Nanopartikel von etwa 50-150nm Durchmesser, die von allen Zelltypen sezerniert werden. Sie spielen eine besondere Rolle bei der interzellulären Kommunikation bei sowohl physiologischen als auch pathophysiologischen Prozessen, da sie in der Lage sind, spezifische zelluläre Bestandteile von Spender- zu Empfängerzellen zu übertragen. Darunter fallen insbesondere Metabolite, funktionelle Proteine und Nukleinsäuren. Diverse Studien konnten aufzeigen, dass aus Zellen mit inflammatorischem Phänotyp isolierte EV in signifikanter Weise anti-apoptotische und pro-inflammatorische Signalwege in anderen Zellen stimulieren können. Ziel des vorliegenden Forschungsprojekts ist es daher, neue molekulare Erkenntnisse über einen möglichen, EV-vermittelten Einfluss entzündeter parodontaler Gewebe auf maligne Erkrankungen zu erarbeiten.

Hintergrund

Parodontitis ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung, die alle Anteile des Parodonts befällt und unbehandelt zu weitgehend irreversiblen Schäden, sowie adversen Effekten auf die systemische Gesundheit führt. Ätiologisch ist die progressive Gewebsdestruktion, neben individuell modulierenden wirtseigenen Faktoren (z.B. Rauchgewohnheiten), die Folge einer Dysbiose des die Zahnoberfläche bedeckenden Mikrobioms, welche mit einer Fehlsteuerung der inflammatorischen Antwort einhergeht [1, 2]. Die im dysbiotischen Biofilm enthaltenen Erreger stimulieren durch die Expression von Virulenzfaktoren wie Lipopolysacchariden (LPS) die im parodontalen Epithel- und Bindegewebe ansässigen Zellen zu einer unspezifischen Immunantwort - der Expression von immunmodulatorisch und proinflammatorisch wirksamen Prostaglandinen, Zytokinen und Chemokinen [3, 4]. Gingivale Fibroblasten sind die im parodontalen Gewebe am häufigsten vorkommende Zellgruppe. Sie zeigen bei Anwesenheit von LPS kein Toleranzverhalten im Sinne eines Sättigungseffektes und nachfolgender inflammatorischer Wirkabschwächung, wie es bei Makrophagen und Monozyten der Fall ist. Daher ist es naheliegend, dass ihnen eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung des Entzündungsgeschehens zukommt [5]. Dieses Entzündungsgeschehen ist nicht auf die lokale Destruktion des Zahnhalteapparates beschränkt, sondern hat über gingivale Blutgefäße Anschluss an den systemischen Blutkreislauf. Es ist wahrscheinlich, dass diese hämatogene Streuung von Entzündungsmediatoren und Mikroorganismen ursächlich für die Assoziation zwischen Parodontitis und dem Auftreten systemischer Erkrankungen ist [6]. Dazu zählen unter anderem Diabetes mellitus, kardiovaskuläre Erkrankungen, Alzheimer, nichtalkoholische Fettleber, rheumatoide Arthritis und bestimmte Arten von Krebs [1, 6, 7].

Die Assoziation zwischen parodontalen Entzündungen und malignen Erkrankungen ist vielfach beschrieben und evident. Diverse epidemiologische Studien und Meta-Analysen konnten belegen, dass das Risiko für die Entstehung eines oralen Plattenepithelkarzinoms bei Parodontitispatienten¹ um das 3,5 bis 10-fache erhöht ist, wobei das Risiko mit fortgeschrittenem PAR-Stadium anzusteigen scheint [8, 9]. Auch andere Formen von Krebs ohne anatomische Nähe zum Zahnhalteapparat weisen signifikante Assoziationen mit Parodontitis auf. Eine Meta-Analyse aus sieben Studien konnte ein um 17% erhöhtes Risiko für Prostatakarzinome ausmachen [10]. Eine Kohortenstudie aus Südkorea konnte ebenfalls zeigen, dass in der Gruppe der Parodontitispatienten bis zu 14% mehr Prostatakarzinome aufgetreten waren [11]. Darüber hinaus ergab eine Metaanalyse aus dem Jahr 2018 ein signifikantes, um 22% höheres Brustkrebsrisiko unter unbehandelten Parodontitispatientinnen, welches in Folge der Parodontitistherapie signifikant reduziert werden konnte [12]. Insgesamt wurde ebenfalls in einer groß angelegten Kohortenstudie älterer Patienten eine um 11,4% höhere Krebsmortalitätsrate bei Parodontitispatienten festgestellt [13]. Aktuelle, pathogenetische Konzepte begründen die Assoziation chronischer Parodontitis mit onkologischen Erkrankungen mit einer verstärkenden Wirkung auf die maligne Transformation infolge der anhaltenden Exposition mit inflammatorischen Zytokinen und freien Radikalen [14, 15]. Bis heute fehlt es jedoch an belastbaren Daten, die einen kausalen Zusammenhang beider Krankheitsentitäten auf molekularer Ebene belegen.

Exosomen sind kleine extrazelluläre Vesikel in Nanogröße (etwa 50-150nm), die von allen Zelltypen sezerniert werden. Sie spielen eine besondere Rolle bei der interzellulären Kommunikation sowohl lokaler und systemischer, als auch physiologischer und

¹ Die in diesem Antrag verwendeten Personenbezeichnungen beziehen sich – sofern nicht anders kenntlich gemacht – immer auf alle Geschlechter. Auf eine Mehrfachnennung und gegenderte Bezeichnungen wird lediglich zugunsten der einfacheren Lesbarkeit verzichtet.

pathophysiologischer Prozesse [16, 17]. Nach intrazellulärer Biogenese werden sie im Anschluss an eine Fusion von Plasmamembran und multivesikulären Körpern (MVBs), in denen sie internalisiert vorliegen, in den extrazellulären Raum freigesetzt (Exozytose) [16, 18]. Nach Ansteuern der Zielzelle (Targeting), können Exosomen entweder durch direkte Liganden-Rezeptorinteraktion nachgeschaltete Signalkaskaden induzieren, ihren Inhalt über eine Fusion mit der Plasmamembran in das Zytosol freisetzen oder als Ganzes internalisiert werden, wobei auch mehrere Wege gleichzeitig ablaufen können. Einst internalisiert, geben sie ihre Bestandteile - Metabolite, Proteine und Nukleinsäuren - in das Zytosol, den Zellkern oder das endoplasmatische Retikulum ab [17]. Durch intensive Forschung konnte in der vergangenen Dekade ein signifikanter, pathomechanistischer Effekt von Exosomen pathologisch veränderter Gewebe auf andere Organsysteme festgestellt werden. Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es folglich, die biologischen Effekte inflammatorischer Exosomen des Parodonts auf Tumorzellen und die medikamentöse Tumorthherapie zu untersuchen.

Stand der Forschung

Diverse Studien konnten bis heute belegen, dass chronische Entzündungsprozesse sowohl das Risiko einer malignen Transformation als auch die Tumorprogression und Metastasierungsrate steigern können. Entzündungsmediatoren wie Chemokine, Zytokine und Wachstumsfaktoren, welche im Rahmen chronischer Entzündungsprozesse in hoher Zahl freigesetzt werden, scheinen dabei unter anderem die Transkriptionsfaktoren STAT3 und Nf- κ B zu stimulieren. Diese Stimulation wiederum führt zur Aktivierung proliferativer und antiapoptotischer Prozesse in der Tumorzelle [19]. Laut Porta et al. sind heute ca. 20% aller Krebstode mit chronischen Entzündungserkrankungen oder Infektionen assoziiert [20]. Demgegenüber wurden in den letzten Jahren viele pathogenetisch relevante Eigenschaften der extrazellulären Vesikel (EV) aufgedeckt. So konnten Neri et al. nachweisen, dass monozytäre EV eine Nf- κ B Aktivierung und somit eine proinflammatorische Immunantwort in A549 Lungenepithelzellen vermitteln können. Ferner konnte gezeigt werden, dass Exosomen aus inflammatorischen M1-Makrophagen über denselben Signalweg eine M1-Polarisation in anderen Makrophagen stimulieren können. Experimentelle Studien im Tiermodell konnten überdies zeigen, dass solche inflammatorischen Exosomen über die Stimulation von Nf- κ B den Zelltod von Kardiomyozyten während des Myokardinfarkts vermitteln [21].

Auf Basis der bisher vorliegenden Literatur erscheint es daher möglich, dass inflammatorische Exosomen sowohl einen Einfluss auf die Tumorgenese als auch einen malignitätssteigernden Effekt auf ein bestehendes Tumorgeschehen ausüben könnten. Der Effekt inflammatorischer Vesikel auf die Tumorbiologie ist bis heute jedoch weitgehend unbekannt. Das geplante Forschungsprojekt soll somit dazu beitragen, molekulare Erkenntnisse über den Zusammenhang zwischen Parodontitis und Krebs zu gewinnen.

Vorarbeiten

Bislang wurden zwei Projekte über extrazelluläre Vesikel entzündeter und nicht-entzündeter, parodontaler Zellen am Lehrstuhl für Parodontologie durchgeführt. So konnte ein reproduzierbares Protokoll zur Präparation der Vesikel etabliert und umgesetzt werden. Hierzu werden humane Gingivafibroblasten (hGF) mit oder ohne Zusatz bakterieller Lipopolysaccharide kultiviert und der Überstand gesammelt. Anschließend werden die Exosomen durch differentielle Ultrazentrifugation bei bis zu 100000 x g sedimentiert und schließlich in einer Pufferlösung (PBS-HA) gewaschen und aufbewahrt. Die weitere Analyse der so gewonnenen Partikel erfolgt mithilfe der Dynamischen Lichtstreuung (DLS), wodurch sich der hydrodynamische Radius der präparierten Nanopartikel auf Basis ihrer inhärenten Molekularbewegung errechnen lässt. Das etablierte Protokoll zur Präparation der extrazellulären Vesikel zeigt in der DLS durchgehend reproduzierbare Partikelgrößen (Abb.1).

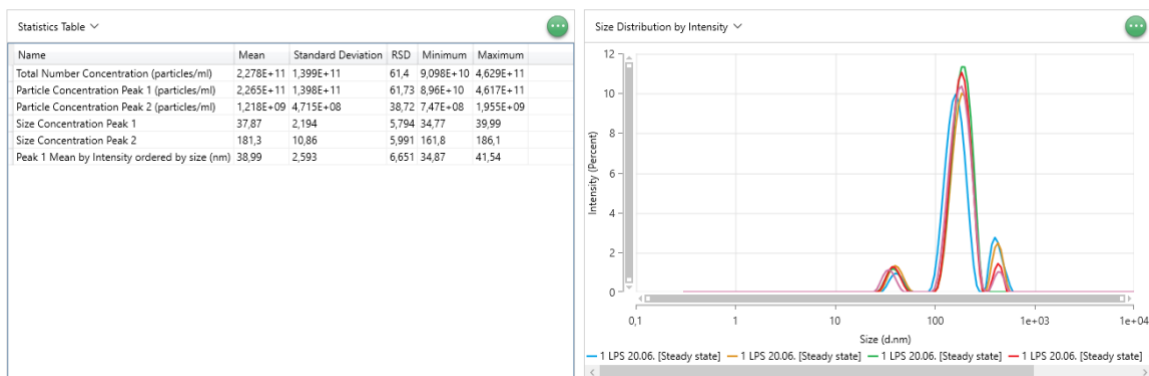


Abbildung 1. Datenauswertung der DLS. Der Graph oben rechts zeigt einen eindeutigen Peak bei Partikeln im Bereich zwischen 100 und 300nm.

In einem weiteren Experiment konnte zudem gezeigt werden, dass die so gewonnenen Vesikel in hoher Zahl membrangängig sind. Durch die Markierung der Vesikel mit einem Carboxyfluorescein Succinimidylester (CFSE) konnten wir so die Vesikelaufnahme in leukämischen THP-1 Monozyten beobachten und mittels Durchflusszytometrie quantifizieren. Hier zeigten sich in sämtlichen Vorversuchen dosisabhängige Effekte (Abb.2).

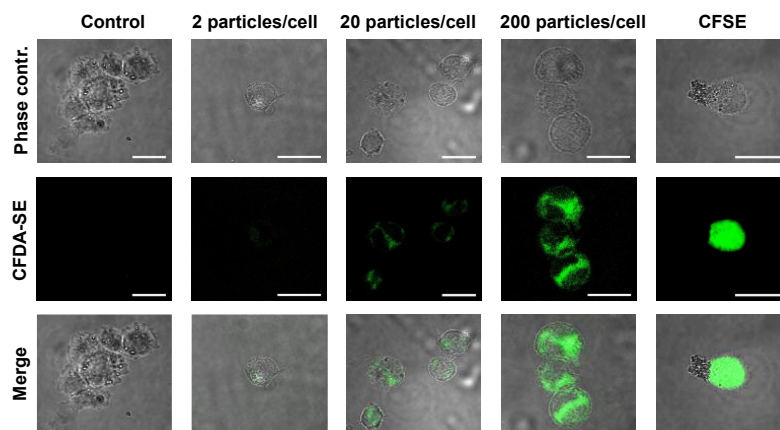


Abbildung 2. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der Uptake-Experimente entnommen aus Diehl et al. (Manuskript in Vorbereitung). Als Positivkontrolle wurden die THP-1 Zellen selbst mit CFDA-SE angefärbt.

In einem anderen Projekt wurden auf diese Weise gewonnene EV mittels smallRNA-Sequenzierung auf ihre enthaltenen Nukleinsäuren untersucht. Dabei konnten 8 differenziell exprimierte miRNA (DEM) in EVs aus LPS-behandelten Fibroblasten identifiziert werden. Im weiteren Verlauf wurden insgesamt 601 Zielgene der 8 DEM für weitere Analysen abgefragt. KEGG-Signalweganalysen zeigten, dass die Zielgene, die von den aus EV stammenden DEMs reguliert wurden, an einer Vielzahl von Signalwegen beteiligt sind, die mit Infektionskrankheiten wie Chagas-Krankheit und Toxoplasmose zusammenhängen. Die meisten Treffer wurden allerdings für Krebs-assoziierte Signalwege gefunden (Abbildung 3A).

Mithilfe von miRNA Expressionsdaten verschiedener Tumorgewebe aus dem Cancer Genome Atlas Projekt (TCGA), konnten wir dann mittels einer Cox-Regressionsanalyse auf Basis von Überlebensdaten, Tumorgrading und der relativen Expression unserer 8 identifizierten DEM einen Risk Score errechnen (Manuskript in Vorbereitung). Die Survival-Analyse unter Anwendung unseres DEM-Risk Scores ergab, dass eine hohe Expression der DEM aus fibroblastären EVs in verschiedenen Tumoren mit einer erhöhten Sterblichkeit assoziiert ist (Abb. 3B).

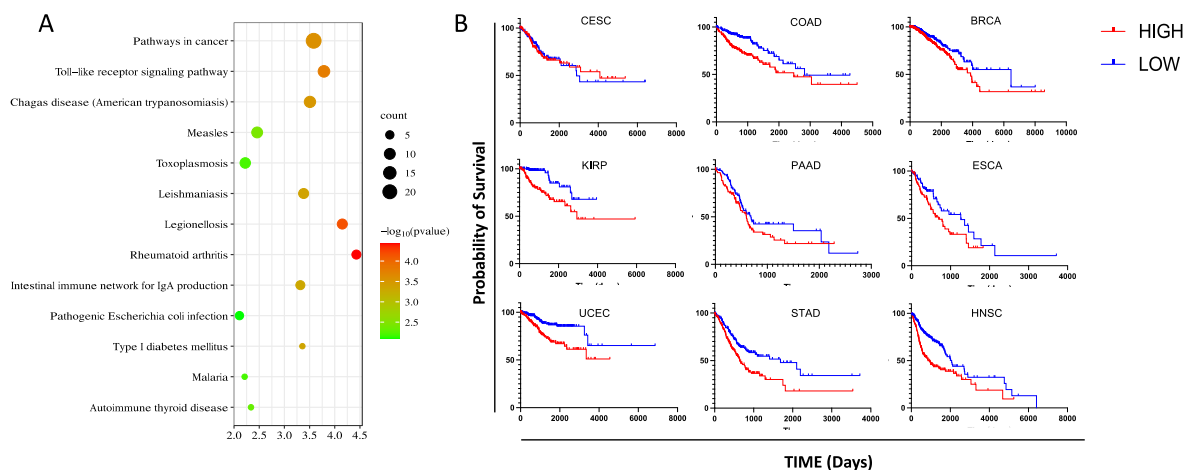


Abbildung 3. A) KEGG-Signalweganalysen als Bubble Plot dargestellt. B) Kaplan-Meier Überlebenskurven verschiedener Tumordatensätze aus dem TCGA. Der miRNA-Risikoscore wurde auf der Basis einer multivariaten Cox Regressionsanalyse berechnet. Die Risikoscores wurden für jeden individuellen Patienten berechnet und über den Median dichotomisiert (HIGH / LOW). Es wird deutlich, dass eine hohe Expression des miRNA-Risikoscores in den meisten Tumoren mit höherer Sterblichkeit assoziiert ist. CESC=Cervical squamous cell carcinoma and endocervical adenocarcinoma, COAD=Colon adenocarcinoma, BRCA=Breast invasive carcinoma, KIRP=Kidney renal papillary cell carcinoma, PAAD= Pancreatic adenocarcinoma, ESCA= Esophageal carcinoma, UCEC= Uterine Corpus Endometrial Carcinoma, STAD= Stomach adenocarcinoma, HNSC= Head and Neck squamous cell carcinoma.

Methoden

Die Exsomen für die geplanten Forschungsprojekte werden erneut mit der bereits beschriebenen Methode aus primären Gingivafibroblasten (hGF-hTert) präpariert. Um die Effekte der so gewonnen Exosomen auf die Tumorbiologie zu untersuchen, werden verschiedene Tumorzelllinien verwendet: MDA-MB-231 (Adenokarzinom der Brust), BHY (Orales Plattenepithelkarzinom), CaKi-1 (Klarzellkarzinom der Niere), CACO-2 (Adenokarzinom des Colons). Um negative Einflüsse inflammatorischer EV auf die medikamentöse Tumorthherapie evaluieren zu können, werden die Zellen zunächst mit gängigen Zytostatika und Wachstumsfaktoringhibitoren behandelt, um danach mit denselben Methoden Veränderungen der pharmakologischen Effekte zu untersuchen.

Proliferationsassays

Veränderungen des Proliferationsverhaltens der einzelnen Tumorzelllinien durch inflammatorische EV werden mithilfe eines MTT-Assays colorimetrisch bestimmt. Anschließend wird die IC50 (inhibitory concentration 50) für verschiedene Tumormedikamente sowohl ohne als auch unter Einfluss inflammatorischer EV ermittelt. Zudem wird die Menge an sich teilenden Zellen in der Kultur mithilfe eines Phycoerythrin-gelabelten Antikörpers gegen den Proliferationsmarker Ki-67 in der Durchflusszytometrie bestimmt.

RNA-Sequenzierung mittels Real-Time Nanopore Sequenzierung

Das Transkriptom der mit EV inkubierten Tumorzellen wird mittels Nanopore-Sequenzierung untersucht, um Anhaltspunkte darüber zu gewinnen, welche Signalwege und Transkriptionsfaktoren durch inflammatorische EVs beeinflusst werden.

Migrations- und Invasionsassays

Untersuchungen des Migrations- und Invasionsverhaltens einzelner Tumorzelllinien unter dem Einfluss inflammatorischer EV werden mithilfe eines Transwell Zellkulturinsets durchgeführt. Die durch die extrazelluläre Matrix (Matrigel) migrierten Zellen werden danach mithilfe von CFDA-SE visualisiert und quantifiziert. Ein entsprechendes Protokoll, welches eine fluoreszenzbasierte, exakte Quantifizierung migrierter Zellen im Multiplate-Reader ermöglicht, wurde bereits etabliert.

Epithelial-Mesenchymale Transition (EMT)

Die EMT stellt einen zentralen Prozess während der Metastasierung dar, bei der Tumorzellen mesenchymale Charakteristika erwerben, was mit steigender Motilität und Migration einhergeht. Typische Marker der EMT sind N-Cadherin, Vimentin und SNAIL. Die Expression dieser wird in der geplanten Studie mittels Western Blot und Fluoreszenzmikroskopie nachgewiesen.

RT-qPCR

Die differentielle Expression verschiedener Onkogene, sowie Angiogenese- und Invasionsassoziiierter Gene wird mithilfe der Reverse Transkriptase - quantitativen PCR (RT-qPCR) gemessen. Hierfür werden die unterschiedlichen Tumorzelllinien mit verschiedenen Vesikelkonzentrationen inkubiert, anschließend die RNA präpariert und in komplementäre DNA (cDNA) umgeschrieben.

Erwartete Ergebnisse

Bis zum Ende des Förderzeitraums erwarten wir belastbare Daten in Bezug auf den Einfluss inflammatorischer EV parodontaler Fibroblasten auf die Tumorbilologie. Auf Basis unserer bisherigen Beobachtungen und der bereits publizierten Literatur ist zu erwarten, dass die Bestandteile inflammatorischer Vesikel parodontaler Zellen einen signifikanten Einfluss auf pro-inflammatorische, anti-apoptotische und invasionsfördernde Signalwege und somit auch einen negativen Einfluss auf die Tumorthherapie ausüben.

Verwertungsplan

Die untenstehende Tabelle stellt die bisher geplanten Publikationen dar. Diese Ergebnisse werden zusätzlich auf Fachkongressen der Parodontologie und Zahnheilkunde, aber auch der Molekularen Medizin vorgestellt.

| Publikationen | | |
|---------------|--|--------------|
| Nr. | Arbeitstitel | Zeithorizont |
| 1. | Effect of inflamed periodontal exosomes on tumor cell behavior in vitro | Q2/2024 |
| 2. | Influence of inflamed periodontal exosomes on chemotherapeutic efficacy in vitro | Q3/2024 |

Tab.1 Publikationsplan

Als Folgeprojekte sind, bei rechtfertigender Datenbasis, experimentelle Studien im Tiermodell geplant, um der Komplexität der parodontalen Entzündungsreaktion und der Tumorgenese Rechnung zu tragen. Zusätzlich sollen primäre Zellen von Parodontitispatienten gewonnen werden, um die individuelle Zusammensetzung der Exosomen von Parodontitispatienten evaluieren zu können. Die vorgestellten Projekte stellen somit das Fundament für eine weitere translationale Erforschung von Parodontitiden und ihren systemischen Auswirkungen auf Krebserkrankungen und deren Therapie.

Eine Anschlussförderung im Rahmen einer DFG-Sachmittelförderung oder des Walter-Benjamin-Programms und der Ausbau nationaler und internationaler Kooperationen wird angestrebt.

Literatur

1. Dannewitz, B., B. Holtfreter, and P. Eickholz, *Parodontitis–Therapie einer Volkskrankheit*. Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz, 2021. **64**(8): p. 931-940.
2. Tonetti, M.S., H. Greenwell, and K.S. Kornman, *Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition*. Journal of periodontology, 2018. **89**: p. S159-S172.
3. Graves, D.T., Y. Jiang, and C. Genco, *Periodontal disease: bacterial virulence factors, host response and impact on systemic health*. Current opinion in infectious diseases, 2000. **13**(3): p. 227-232.
4. Wilson, M., *Biological activities of lipopolysaccharides from oral bacteria and their relevance to the pathogenesis of chronic periodontitis*. Science progress, 1995. **78**: p. 19-34.
5. Ara, T., et al., *Human gingival fibroblasts are critical in sustaining inflammation in periodontal disease*. Journal of periodontal research, 2009. **44**(1): p. 21-27.
6. Hajishengallis, G. and T. Chavakis, *Local and systemic mechanisms linking periodontal disease and inflammatory comorbidities*. Nature Reviews Immunology, 2021: p. 1-15.
7. Deschner, J., *Interaktionen zwischen Parodontitis und Systemerkrankungen*. Der Freie Zahnarzt, 2018. **62**(1): p. 68-76.
8. Yao, Q.-W., et al., *Association of periodontal disease with oral cancer: a meta-analysis*. Tumor Biology, 2014. **35**(7): p. 7073-7077.
9. Shin, Y., et al., *Association of periodontitis with oral cancer: a case-control study*. Journal of dental research, 2019. **98**(5): p. 526-533.
10. Wei, Y., et al., *Association between periodontal disease and prostate cancer: a systematic review and meta-analysis*. Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal, 2021. **26**(4): p. e459.
11. Lee, J.-H., et al., *Association between periodontal disease and prostate cancer: results of a 12-year longitudinal cohort study in South Korea*. Journal of Cancer, 2017. **8**(15): p. 2959.
12. Shao, J., et al., *Periodontal disease and breast cancer: a meta-analysis of 1, 73,162 participants*. Frontiers in oncology, 2018. **8**: p. 601.
13. Chung, P.-C. and T.-C. Chan, *Association between periodontitis and all-cause and cancer mortality: retrospective elderly community cohort study*. BMC Oral Health, 2020. **20**(1): p. 168.
14. Irani, S., I. Barati, and M. Badiei, *Periodontitis and oral cancer-current concepts of the etiopathogenesis*. Oncology reviews, 2020. **14**(1): p. 465.
15. Nwizu, N., J. Wactawski-Wende, and R.J. Genco, *Periodontal disease and cancer: Epidemiologic studies and possible mechanisms*. Periodontology 2000, 2020. **83**(1): p. 213-233.
16. Mathieu, M., et al., *Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication*. Nature cell biology, 2019. **21**(1): p. 9-17.
17. Gurung, S., et al., *The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling*. Cell Communication and Signaling, 2021. **19**(1): p. 1-19.
18. Hessvik, N.P. and A. Llorente, *Current knowledge on exosome biogenesis and release*. Cellular and Molecular Life Sciences, 2018. **75**(2): p. 193-208.
19. Mantovani, A., et al., *Cancer-related inflammation*. nature, 2008. **454**(7203): p. 436-444.
20. Porta, C., et al., *Cellular and molecular pathways linking inflammation and cancer*. Immunobiology, 2009. **214**(9-10): p. 761-777.
21. Biemmi, V., et al., *Inflammatory extracellular vesicles prompt heart dysfunction via TRL4-dependent NF- κ B activation*. Theranostics, 2020. **10**(6): p. 2773.

Finanzplan

| Produkt (Größe) | Hersteller | Anwendung | Kosten |
|---|---------------|--|-----------------|
| BHY Human Oral SC Cell line | Sigma Aldrich | Zellkulturmodell | 1043,63€* |
| Plastikware 20cm Dishes | Sarstedt | Präparation von Exosomen | 500€ |
| Thincert 24-well Zellkultur Insert 96 stk. | Greiner | Migrationsassays | 585,65€* |
| Antikörper gegen N-Cadherin, SNAIL, ALIX, TSG101, CD9, CD81 | SCBT | Immunblot für EMT-Marker und Marker für extrazelluläre Vesikel | 2468,85€* |
| DMEM (20x500ml) | PAN-Biotech | Zellkultur / Präparation Vesikel | 232,00€* |
| FBS Standard (2x500ml) | PAN-Biotech | Zellkultur / Präparation Vesikel | 380,00€* |
| Matrigel Basement Membrane (5ml) | Corning | Invasionsassays | 347,48€* |
| MinION Flow Cell 2 stk. | ONT | RNA-Sequenzierung | 1760€ |
| PCR-cDNA Barcoding Kit | ONT | RNA-Sequenzierung | 715€ |
| Muse® Ki67 Proliferation Kit 2x | Luminex Corp. | Proliferationsassays | 1178,10€* |
| Gesamt | | | 9219,71€ |

*inkl. Mehrwertsteuers

Lebenslauf Dr. Daniel Diehl

Persönliche Daten

Name Daniel Diehl
Geburtsdatum 29.04.1991
Telefon 0174/2532489
02302/926-302
E-Mail daniel.diehl@uni-wh.de

Akademischer Werdegang

Seit 04/2019 Ph.D.-Programm Biomedizin, UW/H
12/2021 Promotion Dr. med. dent., UW/H
„Rauigkeit verschiedener kieferorthopädischer Versiegler“
10/2012-12/2017 Studium der Zahn- Mund- und Kieferheilkunde, UW/H

Beruflicher Werdegang

Seit 07/2019 Weiterbildung zum Fachzahnarzt für Parodontologie
Prof. Dr. Friedmann, UW/H
02/2018-04/2019 Assistenz Zahnarzt Zahnarztpraxis Vieth & Vieth, Berlin

Publikationen

Diehl, D., Friedmann, A., Bachmann, H.S. (2023). Prenyltransferase gene expression reveals an essential role of prenylation for the inflammatory response in human gingival fibroblasts. (Under Review)

Hagemann, A., Altrogge, P. K., Kehrenberg, M. C. A., **Diehl, D.**, Jung, D., Weber, L., & Bachmann, H. S. (2022). Analyzing the postulated inhibitory effect of Manumycin A on farnesyltransferase. *Frontiers in Chemistry*, 10.

Diehl, D., Winkler, M., Bilhan, H., & **Friedmann, A.** (2022). Implant stability of narrow diameter implants in hyperglycemic patients—A 3-month case–control study. *Clinical and Experimental Dental Research*.

Diehl, D., Kaner, D., Bockholt, A., Bilhan, H., & **Friedmann, A.** (2022). Microcirculation and neutrophil-related cytokine concentrations are not altered around narrow diameter implants in T2DM patients during wound healing. *Clinical Oral Investigations*, 1-9.

Diehl, D., Friedmann, A., & Bachmann, H. S. (2022). Evidence-based selection of reference genes for RT-qPCR assays in periodontal research. *Clinical and experimental dental research*, 8(2), 473-484

Friedmann, A., Winkler, M., **Diehl, D.**, Yildiz, M. S., & Bilhan, H. (2021). One-year performance of posterior narrow diameter implants in hyperglycemic and normo-glycemic patients—a pilot study. *Clinical Oral Investigations*, 1-9.

Diehl, D., Bachmann HS, **Friedmann A.** 2020. Statine und Bisphosphonate. Effekte bei parodontalen Entzündungen aus einem molekularen Blickwinkel. *Z Zahnärztl Implantol* 2020; 36: 176–182

