

Aus dem Institut für Neurophysiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

“Suppression of carbamazepine-resistant epileptiform activity
by activation of adenosine A₁ receptors in human neocortex
slices from pharmacoresistant epilepsy patients”

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Zin-Juan Klafft

aus Hofgeismar

Datum der Promotion: 8. Dezember 2017

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt - Deutsch	3
Abstrakt - Englisch.....	5
Eidesstattliche Versicherung	7
Anteilerklärung.....	8
Auszug Journal Summary List.....	9
Publikation.....	10
Lebenslauf.....	21
Publikationsliste.....	23
Danksagung	26

Abstrakt

*Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in: Kluft ZJ, Hollnagel JO, Salar S, Caliskan G, Schulz SB, Schneider UC, Horn P, Koch A, Holtkamp M, Gabriel S, Gerevich Z, Heinemann U. Adenosine A₁ receptor-mediated suppression of carbamazepine-resistant seizure-like events in human neocortical slices. *Epilepsia* 2016;57:746-56. / 18. April 2016*

Blockierung von Carbamazepin-resistenter epileptiformer Aktivität durch Aktivierung von Adenosin A₁ Rezeptoren in humanen neokortikalen Hirnschnitten von pharmakoresistenten Epilepsiepatienten

Einleitung:

Resistenz gegenüber antiepileptischer Medikation ist ein bedeutendes klinisches Problem und betrifft circa 30 % aller Epilepsiepatienten und bis zu 80 % der Patienten mit Temporallappen-Epilepsie. Die chirurgische Resektion der ictogenen Hirnstrukturen ist nur für eine kleine Minderheit der pharmakoresistenten Patienten möglich. Daher ist die Entwicklung von neuen pharmakologischen Behandlungen ein wichtiger Gegenstand der neurologischen Forschung. Das purinerge Rezeptorsystem besteht aus Adenosinrezeptoren und P2-Rezeptoren, welche durch Adenosintriphosphat (ATP) aktiviert werden. Purinerge Rezeptoren modulieren die synaptische Transmission und werden daher als potenzielle Zielstrukturen für die Entwicklung neuer antikonvulsiver Medikamente gesehen. Die vorliegende *in vitro* Studie untersucht die purinerge Modulation von induzierter epileptiformer Aktivität in humanen neokortikalen Hirnschnitten.

Methodik:

Insgesamt wurden 77 neokortikale Hirnschnitte von 17 Patienten mit epilepsiechirurgischen Eingriffen zwischen den Jahren 2010 und 2015 untersucht. Lokale Feldpotenzial Ableitungen wurden in den Schichten V/VI des humanen Neokortex durchgeführt. Um stabile epileptiforme Aktivität, sogenannte anfallsartige Ereignisse (AAE), auszulösen, wurde in der artifiziellen cerebrospinalen Flüssigkeit (aCSF) die extrazelluläre Kalium-Konzentration auf 8 mM erhöht und dem aCSF 50 µM des GABA_A Rezeptorantagonisten Bicucullin-Methiodid hinzugefügt.

Ergebnisse:

1 μM des selektiven A_1 Rezeptoragonisten SDZ WAG 994 blockierte AAEs vollständig in 73 % der Hirnschnitte. Dies entspricht einem signifikant größeren Anteil an Hirnschnitten mit unterdrückten AAEs als durch Applikation von 300 μM ATP (18 %) oder 300 μM Adenosin (13 %) beobachtet wurde. Auch der antikonvulsive Effekt der physiologischen purinergen Breitbandagonisten Adenosin und ATP wurde am ehesten durch Aktivierung der A_1 Rezeptoren ausgelöst. Des Weiteren wurden durch Applikation des selektiven A_1 Rezeptoragonisten in 71 % der Hirnschnitte auch die AAEs unterdrückt, die resistent gegenüber der Applikation von 50 μM Carbamazepin (CBZ) waren. Bei Applikation selektiver $P2Y_1$, $P2X_1$, $P2X_3$, $P2X_{2/3}$ und $P2X_7$ Rezeptorantagonisten wurde keine relevante Modulation der AAE Parameter beobachtet, sodass eine mögliche Beteiligung endogen aktivierter P2 Rezeptoren unwahrscheinlich ist.

Schlussfolgerung:

Das wichtigste Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist die überraschend effiziente Unterdrückung CBZ-resistenter epileptiformer Aktivität in humanen neokortikalen Hirnschnitten durch den selektiven A_1 Rezeptoragonisten SDZ WAG 994. Diese Studie bestätigt die bekannte antikonvulsive Wirkung von Adenosin und beschreibt des Weiteren erstmals die effiziente Blockierung von epileptiformer Aktivität durch direkte A_1 Rezeptoraktivierung in humanen neokortikalen Hirnschnitten. Interessanterweise ist bekannt, dass die Gabe von SDZ WAG 994 durch den Menschen toleriert wird. Dessen Anwendung könnte daher einen neuartigen pharmakologischen Ansatz zur Therapie von Anfallserkrankungen darstellen.

Abstract

Results of the present thesis were previously published in: Kluft ZJ, Hollnagel JO, Salar S, Caliskan G, Schulz SB, Schneider UC, Horn P, Koch A, Holtkamp M, Gabriel S, Gerevich Z, Heinemann U. Adenosine A1 receptor-mediated suppression of carbamazepine-resistant seizure-like events in human neocortical slices. Epilepsia 2016;57:746-56. / April 18, 2016

Suppression of carbamazepine-resistant epileptiform activity by activation of adenosine A₁ receptors in human neocortex slices from pharmacoresistant epilepsy patients

Introduction:

Resistance to antiepileptic drugs is a major clinical problem affecting about 30 % of all epilepsy patients and up to 80 % of patients suffering from temporal lobe epilepsy. Surgical resection of ictogenic brain tissue is only feasible for a small minority of pharmacoresistant patients, therefore, developing novel pharmacological treatment strategies is an important goal of neurological research. The purinergic receptor system comprises of adenosine receptors and adenosine triphosphate (ATP)-activated P2-receptors. They are known to modulate synaptic transmission and are therefore regarded as potential pharmacological targets for new anticonvulsive drugs. The present *in vitro* study investigates adenosinergic modulation of induced epileptiform activity in human neocortical tissue.

Methods:

In total, 77 neocortical slices from 17 patients, who underwent epilepsy surgery between 2010 and 2015, were recorded. Local field potential recordings were obtained in layer V/VI of human neocortex. Stable epileptiform activity, so called seizure-like events (SLEs), were induced by elevating [K⁺] in artificial cerebrospinal fluid (aCSF) to 8 mM and adding 50 µM of the GABA_A receptor antagonist bicuculline-methiodide to the aCSF.

Results:

1 µM of the selective A₁ receptor agonist SDZ WAG 994 fully suppressed SLEs in 73 % of slices yielding a significantly higher proportion of slices where SLEs were blocked than 300 µM of ATP (18 %) or 300 µM of adenosine (13 %). The anticonvulsant effects of the

high dose physiological broadband purinergic agonists ATP and adenosine were most likely mediated by A₁ receptor activation. Moreover, SLEs which were resistant to 50 μM carbamazepine (CBZ) were also blocked by the selective A₁ agonist in 71 % of slices. No relevant effects on SLE parameters were observed by selectively antagonizing P2Y₁, P2X₁, P2X₃, P2X_{2/3} and P2X₇ receptors thus ruling out a possible endogenous P2 receptor mediated anticonvulsant effect.

Conclusion:

The main finding of the present study is a surprisingly high efficacy of the selective A₁ agonist SDZ WAG 994 to block CBZ-resistant epileptiform events in human neocortex tissue. This study confirms the known anticonvulsant action of adenosine and, in addition, provides for the first time evidence for efficient, direct A₁ receptor-mediated suppression of epileptiform activity in human neocortex tissue. Interestingly, SDZ WAG 994 has been shown to be tolerated by humans and thus may constitute a novel pharmacological approach to treating seizure disorders.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Zin-Juan Klaf, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Suppression of carbamazepine-resistant epileptiform activity by activation of adenosine A1 receptors in human neocortex slices from pharmacoresistant epilepsy patients“ 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) 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 Betreuer, angegeben ist.

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

Berlin, 31. Mai 2017

Zin-Juan Klaf

Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Klaft ZJ, Hollnagel JO, Salar S, Caliskan G, Schulz SB, Schneider UC, Horn P, Koch A, Holtkamp M, Gabriel S, Gerevich Z, Heinemann U. **Adenosine A₁ receptor-mediated suppression of carbamazepine-resistant seizure-like events in human neocortical slices.** Epilepsia 2016;57(5):746-56.

Die Idee zur Durchführung der vorliegenden Studie und Experimente kam von dem Promovenden. Die strukturelle und inhaltliche Planung der Experimente erfolgte im weiteren Verlauf gemeinsam mit den beiden Letztautoren (Gerevich Z, Heinemann U).

70 % der Feldpotenzialmessungen zur Primärdatenerhebung erfolgte durch den Promovenden. Vitales, zur Messung geeignetes, humanes Hirngewebe ist eine wertvolle Ressource und steht nur am Operationstag und nur für einen begrenzten, postoperativen Zeitraum von circa 30 Stunden zur Verfügung. Das Gewebe wurde an dreiviertel aller Operationstage vom Promovenden für die Experimente aufbereitet. In Fällen der Verhinderung des Promovenden an Operationstagen wurden Gewebeaufbereitung und Feldpotenzialmessungen auch von Ko-Autoren durch- bzw. fortgeführt, um das Gewebe bestmöglich für Experimente zu nutzen (Hollnagel JO, Salar S, Caliskan G, Schulz SB). Gewebeaufbereitung und Feldpotenzialmessungen der Ko-Autoren erfolgten nach Einweisung und Vorgabe fester Messprotokolle durch den Promovenden.

Die Auswertung aller elektrophysiologischen Primärdaten der vorliegenden Studie erfolgte durch den Promovenden. Die statistische Bewertung der ausgewerteten Primärdaten erfolgte initial vom Promovenden und wurde später gemeinsam mit den Ko-Autoren PD Dr. Zoltan Gerevich und Frau Dr. Siegrun Gabriel finalisiert.

Die in Tabelle 1 gezeigten klinisch-anamnestischen Patientendaten wurden vom Epilepsiezentrum Berlin-Brandenburg (Holtkamp M) zur Verfügung gestellt und vom Promovenden nach Akteneinsicht zusammengestellt.

Die in Tabelle 1 angeführten pathologischen Befunde wurden vom Institut für Neuropathologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin erstellt (Koch A) und vom Promovenden zusammengestellt.

Der erste Manuskriptentwurf und die Abbildungen wurden vom Promovenden selbstständig erstellt und im weiteren Verlauf gemeinsam mit den drei Letztautoren (Gabriel S, Gerevich Z, Heinemann U) überarbeitet und für die Publikation angepasst.

Berlin, 31. Mai 2017

PD Dr. med. Zoltan Gerevich

Berlin, 31. Mai 2017

Zin-Juan Klaft

Auszug Journal Summary List

Journal Data Filtered By: Selected JCR Year: 2015 Selected Editions: SCIE,SSCI Selected Categories: 'CLINICAL NEUROLOGY','NEUROSCIENCES' Selected Category Scheme: WoS RANG 59 von 389				
35	BRAIN BEHAVIOR AND IMMUNITY	9,464	5.874	0.023970
36	Brain Structure & Function	3,534	5.811	0.015030
37	STROKE	57,427	5.787	0.097720
38	Epilepsy Currents	571	5.615	0.001590
39	JOURNAL OF PSYCHIATRY & NEUROSCIENCE	2,690	5.570	0.005510
40	PAIN	32,930	5.557	0.046470
41	NEUROIMAGE	79,475	5.463	0.179770
42	MOLECULAR NEUROBIOLOGY	5,142	5.397	0.013310
43	BRAIN PATHOLOGY	4,403	5.256	0.008770
44	Alzheimers Research & Therapy	1,164	5.197	0.005370
45	Frontiers in Molecular Neuroscience	1,592	5.154	0.007820
46	NEUROBIOLOGY OF AGING	19,205	5.153	0.045730
47	Social Cognitive and Affective Neuroscience	4,695	5.101	0.018340
48	HUMAN BRAIN MAPPING	17,184	4.962	0.040350
49	Molecular Autism	847	4.961	0.004500
50	NEUROPHARMACOLOGY	17,341	4.936	0.039300
51	JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM	16,233	4.929	0.030330
52	CNS DRUGS	3,755	4.910	0.008140
53	BIPOLAR DISORDERS	5,191	4.882	0.009570
54	NEUROBIOLOGY OF DISEASE	13,718	4.856	0.033810
55	Journal of Stroke	244	4.795	0.000990
56	Brain Stimulation	2,918	4.793	0.009070
56	SLEEP	16,906	4.793	0.026010
58	JOURNAL OF PHYSIOLOGY-LONDON	47,457	4.731	0.053030
59	EPILEPSIA	22,884	4.706	0.041230
60	PSYCHONEUROENDOCRINOLOGY	13,117	4.704	0.027600
61	Neurotherapeutics	2,820	4.676	0.008680
62	Multiple Sclerosis Journal	8,850	4.671	0.021480
63	Journal of Neuroinflammation	6,293	4.667	0.020510
64	EXPERIMENTAL NEUROLOGY	18,603	4.657	0.028980
65	Frontiers in Cellular Neuroscience	3,841	4.609	0.016240
66	Translational Stroke Research	1,078	4.503	0.004200
67	NEUROPATHOLOGY AND APPLIED NEUROBIOLOGY	3,133	4.483	0.006070
68	CURRENT OPINION IN NEUROLOGY	4,784	4.469	0.011510

Publikation

Adenosine A1 receptor-mediated suppression of carbamazepine-resistant seizure-like events in neocortical slices.

Klaft ZJ, Hollnagel JO, Salar S, Caliskan G, Schulz SB, Schneider UC, Horn P, Koch A, Holtkamp M, Gabriel S, Gerevich Z, Heinemann U.

Epilepsia 2016;57(5):746-56. doi: 10.1111/epi.13360. Epub 2016 Apr 18.

<http://dx.doi.org/10.1111/epi.13360>

Lebenslauf

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

Publikationsliste

Journal-Artikel (Peer Reviewed)

1. **Klaft ZJ**, Hollnagel JO, Salar S, Caliskan G, Schulz SB, Schneider UC, Horn P, Koch A, Holtkamp M, Gabriel S, Gerevich Z, Heinemann U. Adenosine A₁ receptor-mediated suppression of carbamazepine-resistant seizure-like events in neocortical slices. *Epilepsia* 2016;57(5):746-56.
2. Antonio LL, Anderson ML, Angamo EA, Gabriel S, **Klaft ZJ**, Liotta A, Salar S, Sandow N, Heinemann U. In vitro seizure like events and changes in ionic concentration. REVIEW. *J Neurosci Methods* 2016;260:33-44.
3. Sandow N, Kim S, Raue C, Päsler D, **Klaft ZJ**, Antonio LL, Hollnagel JO, Kovacs R, Kann O, Horn P, Vajkoczy P, Holtkamp M, Meencke HJ, Cavalheiro EA, Pragst F, Gabriel S, Lehmann TN, Heinemann U. Drug resistance in cortical and hippocampal slices from resected tissue of epilepsy patients: no significant impact of p-glycoprotein and multidrug resistance-associated proteins. *Front Neurol* 2015;6:30.
4. **Klaft ZJ**, Schulz SB, Maslarova A, Gabriel S, Heinemann U, Gerevich Z. Extracellular ATP differentially affects epileptiform activity via P2X₇ and adenosine A₁ receptors in naive and chronic epileptic rats. *Epilepsia* 2012;53(11):1978-86.
5. Schulz SB, Heidmann KE, Mike A, **Klaft ZJ**, Heinemann U, Gerevich Z. First and second generation antipsychotics influence hippocampal gamma oscillations by interactions with 5-HT₃ and D₃ receptors. *Br J Pharmacol* 2012;167(7):1480-91.
6. Schulz SB*, **Klaft ZJ***, Rösler AR, Heinemann U, Gerevich Z. Purinergic P2X, P2Y and adenosine receptors differentially modulate hippocampal gamma oscillations. *Neuropharmacology* 2012;62(2):914-24.

* equal contribution, shared first-authorship

Vortrag (Submitted Talk)

1. European Winter Conference on Brain Research, Les Arcs, Frankreich, 5. März 2017: "Purinergic modulation of neuronal network oscillations and its translational potential – New tricks for an old pony?"

Posterpräsentationen

1. Lippmann K, Maslarova A, **Klaft ZJ**, Salar S, Hollnagel JO, Rösler A, Heinemann U. Altered properties of sharp-wave-ripples in the subiculum of mice that underwent kainate-induced status epilepticus. Göttinger Jahrestagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft, Göttingen, 2017.
2. Maslarova A, Salar S, Lippmann K, **Klaft ZJ**, Rösler A, Heinemann U. Mechanisms underlying subicular sharp wave-like events. Symposium Ion Channels in Health and Disease, University of Cambridge, Cambridge, Großbritannien, 2013.
3. **Klaft ZJ**, Sandow N, Kim S, Päsler D, Leite Antonio L, Kovacs R, Kann O, Horn P, Vajkoczy P, Meencke HJ, Cavalleiro EA, Schulz SB, Gerevich Z, Gabriel S, Lehmann TN, Heinemann U. Epileptiform activity in human neocortex slices: Induction, pharmacoresistance and purinergic modulation. Gordon Conference "Mechanisms of Epilepsy and Neuronal Synchronization", Waterville Valley, NH, USA, 2012.
4. **Klaft ZJ**, Schulz SB, Maslarova A, Gabriel S, Heinemann U, Gerevich Z. Endogenously activated P2X4, P2X7 and P2Y1 receptors have minor proconvulsive effects on epileptiform activity in rat medial entorhinal cortex. 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, Spanien, 2012.
5. **Klaft ZJ**, Schulz SB, Maslarova A, Gabriel S, Heinemann U, Gerevich Z. Endogenously activated P2 receptors mediate minor modulatory effects on epileptiform activity in rat medial entorhinal cortex. Berlin Neuroscience Forum, Bad Liebenwalde, 2012.
6. Schulz SB, **Klaft ZJ**, Mike A, Heinemann U, Gerevich Z. Typical and atypical antipsychotics modulate hippocampal gamma oscillations. Berlin Brain Days, Berlin, 2011.
7. **Klaft ZJ**, Schulz SB, Nichtweiß JF, Gabriel S, Heinemann U, Gerevich Z. ATP-activated P2 receptors in acute, chronic and human slice models of epilepsy. Epicure Meeting, Venedig, Italien, 2011.
8. **Klaft ZJ**, Schulz SB, Rösler AR, Heinemann U, Gerevich Z. ATP-activated P2X and P2Y receptors differentially modulate gamma network oscillations in the rat hippocampus. 9. Göttinger Jahrestagung der Neurowissenschaftlichen Gesellschaft, Göttingen, 2011.

9. Schulz SB*, **Klaft ZJ***, Rösler AR, Heinemann U, Gerevich Z. Endogenous ATP modulates gamma oscillations induced by ACh in the rat hippocampus differentially via P2X and P2Y receptors in vitro. Berlin Brain Days, Berlin, 2010. *equal contribution
10. **Klaft ZJ**, Schulz SB, Rösler AR, Heinemann U, Gerevich Z. ATP-activated P2X and P2Y receptors differentially modulate gamma network oscillations in the rat hippocampus. 7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam, 2010.
11. Schulz SB, **Klaft ZJ**, Heinemann U, Gerevich Z. Transiently decreased extracellular ATP concentration during the onset of hippocampal gamma network oscillations. 7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam, 2010.
12. Schulz SB*, **Klaft ZJ***, Rösler AR, Heinemann U, Gerevich Z (2010). Transiently decreased extracellular ATP concentration during the onset of hippocampal gamma network oscillations which are differentially modulated by ATP-activated P2X and P2Y receptors. EMBO Workshop "GABA Signaling and Brain Networks", Amsterdam, 2010. *equal contribution
13. **Klaft ZJ**, Schulz SB, Rösler A, Heinemann U, Gerevich Z. Differential modulation of gamma oscillations via ATP-activated P2X and P2Y receptors in the rat hippocampus. Berlin Neuroscience Forum, Bad Liebenwalde, 2010.
14. Schulz SB, **Klaft ZJ**, Heinemann U, Gerevich Z. Transiently decreased extracellular ATP concentration during the onset of hippocampal gamma network oscillations. Berlin Neuroscience Forum, Bad Liebenwalde, 2010.
15. Schulz SB, **Klaft ZJ**, Heinemann U, Gerevich Z. Effect of ATP-activated P2 receptors on hippocampal gamma network oscillations. Berlin Brain Days, Berlin, 2009.

Danksagung

Thank you Prof. Uwe Heinemann for many years of unwavering support, kindness & generosity, introducing me to the world of neuroscience, mind-opening debates and the freedom to think. I wish we could have talked one more time... Farewell!

I am very grateful to PD Dr. Zoltan Gerevich for many productive years, his trust and our projects. Thank you so much for “saving” my thesis and thank you for helping to follow the translational effort. It has been exciting - what a ride it has been so far!

Dr. Siegrun Gabriel, thank you for teaching me so much about electrophysiology, statistics and human tissue preparation. I am forever thankful for your great help. It has been fantastic to know and work with you. Also, thank you for many years of kindness.

Prof. Istvan Mody, I feel extremely lucky to have met you. Heartfelt thanks for your multiple ways of support and the incredibly valuable lessons in your lab about critical thinking, open-mindedness to new methods and how to enjoy life & what to do when it gives you lemons. Thank you Dr. Guido Faas for your help and discussions in the UCLA lab.

Thank you so much Prof. Christophe Bernard for being my mentor right from the beginning, encouraging new perspectives and introducing me to Eve Marder's work. I am very grateful for your support in rough times, mind-boggling discussions at all times and great fun times whenever possible. Thank you for openly discussing your thoughts!

I am grateful to have met Dr. Richard Kovacs and learn from him. Thank you for sharing! For collaborating on human tissue projects I am grateful for the support of Prof. Martin Holtkamp and the input of Prof. Albert Becker. Many thanks for your precious help.

I am sincerely thankful to Dr. Katrin Schulze, Tanja Specowius, Barbara Neuhoff, Sonja Frosinski and Ilona Fleischmann for administrative assistance and helping me to deal with bureaucracy. Also, thank you Dr. Hans-Jürgen Gabriel for incredibly valuable technical assistance.

My dear colleagues in the lab! I am very happy and lucky to have met such a fine crew. Seda Salar, thank you for standing up for me, will never forget. A special thank you for ridiculously fun times, sharing exciting experiences and also collaborating on projects to: Jan-Oliver Hollnagel, Anna Maslarova, Gürsel Caliskan, Anton Rösler, Julia Nichtweiß, Kristina Lippmann, Steffen Schulz, Nora Sandow und Simon Kim. Many thanks to Shalva Gurgednize. Sebastian Ivens, Rizwan Ul-Haq, Marlene Anderson, Christine Huchzermeyer, Silvia Fano, Agustin Liotta, Eskedar Ayele, Karl Schoknecht and Ezequiel Laplover for making the lab environment such a friendly place.

Thank you to my friends in the real world for your patience and support. Mareike Müller, you are incredible. I am eternally grateful to know you - thank you for being my friend and ally. Björn Martens and Roberto Manzano, thank you for this wonderful friendship and the good times. My dear good ol' friends Jakob Haupt, David Roth, Björn Baumstark and Philip von Mollenkott – thank you for your contagious chuzpe, your fearlessness towards life and the joy that comes with this attitude. Thanks for sticking around.

Closing these thank-you notes, I want to thank my family in Korea and Germany for their warm and magnificent support. Mum and Dad, I cannot even express my gratitude, thank you for believing in me and supporting my ways no matter what. Thank you for being the rock-solid base I can build on. Thank you for teaching me early on that new things come with disruptions and that chances are inherent to changes. I could not have done anything over here without your support along the way. Thank you for your love.