

Aus dem Berlin-Brandenburg Centrum für Regenerative Therapien
(BCRT)
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

In situ Lokalisation und Diskriminierung von pathophysiologischen Regionen in
traumatisierter Skelettmuskulatur mit Hilfe von bildgebender Massenspektrometrie.

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dipl. Ing (FH) Oliver Klein

aus Berlin

Datum der Promotion: 04.09.2015

Inhaltsverzeichnis

Abstract/Zusammenfassung.....	1
Anteilerklärung/eidesstattliche Versicherung.....	5
Auszug Journal Summary List (ISI Web of KnowledgeSM).....	7
Dissertationsrelevante Publikation (Top Journal Publikation)...	8
Lebenslauf.....	20
Publikationsliste.....	22
Danksagung.....	24

Abstract

***In situ* localization and discrimination of pathophysiological regions in traumatized skeletal muscle by imaging mass spectrometry.**

Purpose: Skeletal muscle injuries are extremely common, since they do not only result directly from an injury, but also from iatrogenic muscle damage enduring various surgical procedures (e.g. hip or knee replacement surgery). The limited regeneration of the injured skeletal muscle is clinically challenging, compromises the general tissue function and results in unsatisfying outcome for the affected patients. To date, no treatment approach exists in clinical use, which allows the regeneration of contractile muscle tissue. However, our previous work demonstrates that cell-based strategies are able to enhance the regeneration of skeletal muscle in animal models and humans. A part from an incomplete understanding of the exact mechanisms by which specific cells promote restoration of skeletal muscle function; there is a lack of reliable markers to discriminate accurately the different pathophysiological regions within the injured muscle. Such markers are one key requirement for the further development, risk stratification, and the monitoring of efficacy of experimental cell-based therapies aiming to enhance muscle healing. Non-targeted proteome methodologies, such as gel-electrophoresis (2DE) or liquid chromatography (LC) combined with mass spectrometry (MS), are promising to reveal new pathophysiological-related markers¹ and therapeutic targets². However these methodologies give little knowledge about the actual spatial distribution of pathophysiological changes. Therefore, *in situ* analysis, by using a combination of non-targeted proteomic approaches and imaging mass spectrometry, seems to be a promising approach to identify such novel markers for the localization of the different pathophysiological regions in traumatized skeletal muscle.

Experimental design: Matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry (MALDI-IMS) for direct (*in situ*) peptide signature analysis and subsequent *bottom-up* mass spectrometry (LC-MS/MS) were used to identify proteins, which describing the spatial characteristics of pathophysiological changes in injured rat skeletal muscle tissue. The results were validated by immunohistochemistry staining.

Results: *Alpha skeletal muscle actin (Act5)* and *carbonic anhydrase 3 (Ca3)* were identified and validated as promising novel biomarkers to discriminate the primary trauma and trauma adjacent region within the muscle tissue.

¹ Geißler S, Textor M, Schmidt-Bleek K, **Klein O**, et al. 2013

² **Klein O**, Rohwer N, de Molina KF, Mergler S, et al 2013

Conclusions and clinical relevance: This is the first study showing that tissue-based proteomic profiling by the non-target approaches MALDI-IMS and subsequent “bottom up” LC-MS/MS analysis is a suitable method to identify proteomic (bio) markers and to discriminate pathophysiological alterations between the primary trauma and trauma adjacent muscle. We propose that the presented workflow provides the basis for monitoring and stratification of (cell-based) therapeutic approaches aiming to improve muscle healing.

MALDI imaging mass spectrometry: Discrimination of pathophysiological regions in traumatized skeletal muscle by characteristic peptide signatures. **Klein O**, Strohschein K, Nebrich G, Oetjen J, Trede D, Thiele H, Alexandrov T, Giavalisco P, Duda GN, von Roth P, Geissler S, Klose J, Winkler T. *Proteomics*. 2014 Oct; 14(20):2249-60. doi: 10.1002/pmic.201400088. Epub 2014 Aug PMID: 25056804

Artikel ist unter der folgenden URL lesbar:

<http://dx.doi.org/10.1002/pmic.201400088>

Zusammenfassung

***In situ* Lokalisation und Diskriminierung von pathophysiologischen Regionen in traumatisierter Skelettmuskulatur mit Hilfe von bildgebender Massenspektrometrie.**

Zielsetzung: Verletzungen der Skelettmuskulatur sind sehr häufig, da sie nicht nur direkt aus einer Verletzung resultieren, sondern auch durch iatrogene Beschädigungen des Muskels während verschiedener operativer Eingriffe (z.B. Hüft- bzw. Knie-Ersatz-Operationen) hervorgerufen werden. Die begrenzte Regenerationsfähigkeit des verletzten Muskels schränkt die generelle Funktion des Gewebes ein und führt dadurch zu unbefriedigenden Heilungsergebnissen bei den betroffenen Patienten. Gegenwärtig gibt es keine Behandlungsansätze in der klinischen Anwendung, welche die Regeneration von kontraktilen Muskelgewebe ermöglichen. In Vorarbeiten konnten wir jedoch im Tiermodellen und im Menschen zeigen, dass Zell-basierte Strategien in der Lage sind die Regeneration von verletztem Skelettmuskel substantiell zu verbessern. Neben einem unvollständigen Verständnis der exakten Mechanismen durch welche die verwendeten Zellen die Muskelfunktion wiederherstellen, besteht ein Mangel an verlässlichen Markern zur akkuraten Unterscheidung der verschiedenen pathologischen Regionen innerhalb des verletzten Muskels. Solche Marker (Demonstratoren) sind eine der Schlüsselvoraussetzungen für die Weiterentwicklung, die Stratifizierung und für das Monitoring der Wirksamkeit unserer experimentellen Zell-basierten Therapien zur Verbesserung der Muskelheilung. *Non-target*-Proteomanalysen, wie beispielsweise 2D-Gelelektrophorese (2DE) oder Flüssigkeitschromatographie (LC) basierter Massenspektrometrie (MS), sind ein viel versprechender Ansatz zur Identifizierung von neuen therapeutischen *Targets*³ und Markern zur Charakterisierung von pathophysiologischen Prozessen⁴. Allerdings ermöglichen diese Methoden nicht die räumliche Unterscheidung der pathophysiologischen Regionen. Die *in situ* Analyse, mittels kombinierter *non-target* Proteomanalyse und bildgebender Massenspektrometrie, erscheint daher ein vielversprechender Ansatz für die Identifizierung neuer Marker für die Lokalisation der unterschiedlichen pathologischen Regionen in traumatisierten Skelettmuskulatur zu sein.

Experimentelles Design: Mit Hilfe der (i) bildgebenden Massenspektrometrie auf Basis der Matrix-unterstützten Laser-Desorption/Ionisation (MALDI Imaging), zur direkten (*in situ*) Analyse von Proteinen/Peptiden im Gewebe, und (ii) komplementärer bottom-up Massenspektrometrie (LC-MS/MS) zur die Proteinidentifizierung, wurden die charakteristischen pathophysiologischen Veränderungen in Formalin-fixiertem und Paraffin eingebettetem verletzten Skelettmuskulatur untersucht (Tiermodell; Ratte).

³ Klein O, Rohwer N, de Molina KF, Mergler S, et al 2013

⁴ Geißler S, Textor M, Schmidt-Bleek K, Klein O. et al 2013

Identifizierte charakteristische Proteinmarker wurden anschließend mittels Immun-histologischer Färbung validiert.

Ergebnisse: *Alpha skeletal muscle actin (Act5)* und *Carbonic anhydrase 3 (Ca3)* wurden als vielversprechende neue Biomarker für die Diskriminierung der pathophysiologischen Regionen, Trauma und Trauma umgebenden Gewebe, identifiziert und validiert.

Schlussfolgerung & klinische Relevanz: Diese erstmals durchgeführte Studie zeigt, dass *in situ* Proteomanalysen (MALDI Imaging und komplementäre bottom up LC-MS/MS Analysen) geeignet sind, pathophysiologische Unterschiede zwischen primärem Trauma und Trauma-umgebendem Skelettmuskel durch die Verteilung von molekularer Signaturen (Proteine) zu diskriminieren. Dieses Verfahren ist die Basis für weitere Untersuchungen und Stratifizierung von Zell-basierten Therapieansätzen und wird in zukünftigen Studien Anwendung finden.

MALDI imaging mass spectrometry: Discrimination of pathophysiological regions in traumatized skeletal muscle by characteristic peptide signatures. **Klein O**, Strohschein K, Nebrich G, Oetjen J, Trede D, Thiele H, Alexandrov T, Giavalisco P, Duda GN, von Roth P, Geissler S, Klose J, Winkler T. *Proteomics*. 2014 Oct; 14(20):2249-60. doi: 10.1002/pmic.201400088. Epub 2014 Aug PMID: 25056804

Artikel ist unter der folgenden URL lesbar:

<http://dx.doi.org/10.1002/pmic.201400088>

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Oliver Klein, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „**In situ Lokalisation und Diskriminierung von pathophysiologischer Regionen in traumatisierter Skelettmuskulatur mit Hilfe von bildgebender Massenspektrometrie**“ 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/der Betreuer/in, angegeben ist. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

MALDI imaging mass spectrometry: Discrimination of pathophysiological regions in traumatized skeletal muscle by characteristic peptide signatures. **Klein O**, Strohschein K, Nebrich G, Oetjen J, Trede D, Thiele H, Alexandrov T, Giavalisco P, Duda GN, von Roth P, Geissler S, Klose J, Winkler T. *Proteomics*. 2014 Oct; 14(20):2249-60. doi: 10.1002/pmic.201400088. Epub 2014 Aug PMID: 25056804

Beitrag im Einzelnen:

Oliver Klein

- Aufbau der MALDI Imaging-Plattform
- Erarbeitung der Expertise und Hardwarebeschaffung
- Präparationsoptimierung von Muskelgewebe für die bildgebende Massenspektrometrie
- Durchführung und Optimierung der massenspektrometrischen Messung
- Analyse/Auswertung der massenspektrometrisch erzeugten Spektren mittels komplexer mathematischer Verfahren (siehe Manuskript z.B Abb. 1-2 Supplementary Tabellen.)
- Identifikation der relevanten Diskriminierungsmarker (siehe Manuskript Supplementary)
- Interpretation der Daten im biologischen Kontext und Literatur Recherche
- Organisation des wissenschaftlichen Netzwerks (SCiLS Lab, Max Planck Institut; Golm, Fraunhofer MEVIS)
- Verfassung und Illustration der wissenschaftlichen Publikation
- Posterpräsentation der Daten auf Kongressen (Siena Meeting 2012, Proteomics Forum 2013, Siena Meeting 2014).

Strohschein, Kristin

Durchführung von chirurgischen Eingriffen (standardisierte Trauma) und Extraktion/Präparation des Soleus Muskels der Ratte; Immunhistologische Färbungen.

Grit Nebrich

Unterstützung bei der Durchführung der MALDI Imaging Analysen und Illustration des Manuskripts.

Janina Oetjen

Einweisung in die SCiLS Lab Software.

Theodore Alexandrov; Dennis Trede , Herbert Thiele

Breitstellung der SCiLS Lab Software und Optimierung der Einstellungen für das Projekt.

Giavalisco Patrick

Bereitstellung des Orbitrap-MS zur Identifizierung der Diskriminierungsmarker.

Georg N. Duda, Philip von Roth, Tobias Winkler

Erarbeitung der klinischen Fragenstellung und Finanzierung sowie Projektskizze.

Joachim Klose

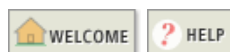
Bereitstellung der Laborräume und Apparaturen.

Sven Geissler

Unterstützung bei der Erarbeitung von Strategien für die die Projektentwicklung und Interpretation der Daten im biologischen Kontext. Korrektur Manuskript.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin.

Unterschrift des Doktoranden



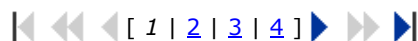
Journal Summary List

[Journal Title Changes](#)

 Journals from: subject categories **BIOCHEMICAL RESEARCH METHODS**

 Sorted by:

Journals 1 - 20 (of 78)



Ranking is based on your journal and sort selections.

Mark	Rank	Abbreviated Journal Title (linked to journal information)	ISSN	JCR Data						Eigenfactor [®] Metrics	
				Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	Articles	Cited Half-life	Eigenfactor [®] Score	Article Influence [®] Score
<input type="checkbox"/>	1	NAT METHODS	1548-7091	24560	25.953	27.195	4.755	155	4.1	0.15304	14.131
<input type="checkbox"/>	2	CURR OPIN BIOTECH	0958-1669	10289	8.035	8.466	1.380	150	6.6	0.02414	2.733
<input type="checkbox"/>	3	NAT PROTOC	1754-2189	20399	7.782	13.142	1.232	181	5.4	0.08855	5.931
<input type="checkbox"/>	4	MOL CELL PROTEOMICS	1535-9476	15491	7.254	7.395	1.390	305	4.9	0.05306	2.665
<input type="checkbox"/>	5	ACTA CRYSTALLOGR D	0907-4449	14310	7.232	9.416	0.611	257	5.4	0.06383	5.014
<input type="checkbox"/>	6	CURR ISSUES MOL BIOL	1467-3037	568	6.000	4.420	0.500	6	7.4	0.00126	1.507
<input type="checkbox"/>	7	BRIEF BIOINFORM	1467-5463	3308	5.919	7.738	2.484	62	5.2	0.01405	3.112
<input type="checkbox"/>	8	LAB CHIP	1473-0197	19558	5.748	6.002	1.317	521	3.9	0.05847	1.507
<input type="checkbox"/>	9	J PROTEOME RES	1535-3893	19028	5.001	4.894	0.736	527	4.3	0.06426	1.416
<input type="checkbox"/>	10	PLOS COMPUT BIOL	1553-7358	14236	4.829	5.670	0.762	534	4.0	0.08571	2.631
<input type="checkbox"/>	11	BIOCONJUGATE CHEM	1043-1802	14074	4.821	4.862	0.785	209	5.9	0.03017	1.246
<input type="checkbox"/>	12	BIOINFORMATICS	1367-4803	56703	4.621	6.968	0.792	649	6.7	0.18072	3.139
<input type="checkbox"/>	13	J CHROMATOGR A	0021-9673	63485	4.258	4.339	0.636	1070	7.6	0.07982	0.870
<input type="checkbox"/>	14	PROTEOMICS	1615-9853	16488	3.973	4.078	0.936	311	5.8	0.03968	1.164
<input type="checkbox"/>	15	ACS SYNTH BIOL	2161-5063	335	3.951	3.951	1.213	75	1.3	0.00155	1.527
<input type="checkbox"/>	16	J PROTEOMICS	1874-3919	4923	3.929	4.120	0.697	383	2.3	0.01942	1.033
<input type="checkbox"/>	17	J BIOPHOTONICS	1864-063X	1474	3.856	3.959	1.329	85	3.0	0.00597	1.053
<input type="checkbox"/>	18	BIOMICROFLUIDICS	1932-1058	1914	3.771	3.668	1.329	140	2.5	0.00675	0.896
<input type="checkbox"/>	19	BIOTECHNOL J	1860-6768	2740	3.708		1.675	123	3.6	0.00884	
<input type="checkbox"/>	20	J BREATH RES	1752-7155	792	3.590	3.414	0.677	62	3.8	0.00182	0.553

MALDI imaging mass spectrometry: discrimination of pathophysiological regions in traumatized skeletal muscle by characteristic peptide signatures.

Klein O, Strohschein K, Nebrich G, Oetjen J, Trede D, Thiele H, Alexandrov T, Giavalisco P, Duda GN, von Roth P, Geissler S, Klose J, Winkler T.

Due to formation of fibrosis and the loss of contractile muscle tissue, severe muscle injuries often result in insufficient healing marked by a significant reduction of muscle force and motor activity. Our previous studies demonstrated that the local transplantation of mesenchymal stromal cells into an injured skeletal muscle of the rat improves the functional outcome of the healing process. Since, due to the lack of sufficient markers, the accurate discrimination of pathophysiological regions in injured skeletal muscle is inadequate, underlying mechanisms of the beneficial effects of mesenchymal stromal cell transplantation on primary trauma and trauma adjacent muscle area remain elusive. For discrimination of these pathophysiological regions, formalin-fixed injured skeletal muscle tissue was analyzed by MALDI imaging MS. By using two computational evaluation strategies, a supervised approach (ClinProTools) and unsupervised segmentation (SCiLS Lab), characteristic m/z species could be assigned to primary trauma and trauma adjacent muscle regions. Using "bottom-up" MS for protein identification and validation of results by immunohistochemistry, we could identify two proteins, skeletal muscle alpha actin and carbonic anhydrase III, which discriminate between the secondary damage on adjacent tissue and the primary traumatized muscle area. Our results underscore the high potential of MALDI imaging MS to describe the spatial characteristics of pathophysiological changes in muscle.

Proteomics. 2014 Oct;14(20):2249-60.Epub 2014 Aug 21.

Artikel ist unter der folgenden URL lesbar:

<http://dx.doi.org/10.1002/pmic.201400088>

Lebenslauf

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

Publikationen (2008-2014)

Kararigas G, Fliegner D, Forler S, **Klein O**, Schubert C, Gustafsson JA, Klose J, Regitz-Zagrosek V. Comparative Proteomic Analysis Reveals Sex and Estrogen Receptor β Effects in the Pressure Overloaded Heart. *J Proteome Res.* 2014 Nov 19 PMID: 25406860; *in press* (**Impact Factor: 5.223**)

Klein O, Strohschein K, Nebrich G, Oetjen J, Trede D, Thiele H, Alexandrov T, Giavalisco P, Duda GN, von Roth P, Geissler S, Klose J, Winkler T. MALDI imaging mass spectrometry: Discrimination of pathophysiological regions in traumatized skeletal muscle by characteristic peptide signatures. *Proteomics.* 2014 Oct;14(20):2249-60. doi: 10.1002/pmic.201400088. Epub 2014 Aug PMID: 25056804 (**Impact Factor: 4.223**)

Forler S, **Klein O**, Klose J. Individualized proteomics *J Proteomics.* 2014 Jul 31;107:56-61. doi: 10.1016/j.jprot.2014.04.003. Epub 2014 Apr 13. PMID: 24732725 (**Impact Factor: 4.302**)

Klein O, Rohwer N, de Molina KF, Mergler S, Wessendorf P, Herrmann M, Klose J, Cramer T. Application of two-dimensional gel-based mass spectrometry to functionally dissect resistance to targeted cancer therapy. *Proteomics Clin Appl.* 2013 Dec;7(11-12):813-24. doi: 10.1002/prca.201300056.PMID: 24307263 (**Impact Factor: 2.683**)

In serum veritas-in serum sanitas? Cell non-autonomous aging compromises differentiation and survival of mesenchymal stromal cells via the oxidative stress pathway. Geißler S, Textor M, Schmidt-Bleek K, **Klein O**, Thiele M, Ellinghaus A, Jacobi D, Ode A, Perka C, Dienelt A, Klose J, Kasper G, Duda GN, Strube P *Cell Death Dis.* 2013 Dec 19;4:e970. doi: 10.1038/cddis.2013.501. (**Impact Factor: 5.177**)

Kulawig R, Krüger JP, **Klein O**, Konthur Z, Schütte H, Klose J, Kaps C, Endres M. Identification of fibronectin as a major factor in human serum to recruit subchondral mesenchymal progenitor cells. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013 Jul;45(7):1410-8. doi: 10.1016/j.biocel.2013.04.016. Epub 2013 Apr 21. PMID: 23612019 (**Impact Factor: 4.240**)

Bal G, Kamhieh-Milz J, Sterzer V, Al-Samman M, Debski J, **Klein O**, Kamhieh-Milz S, Bhakdi S, Salama A. Proteomic profiling of secreted proteins for the hematopoietic support of interleukin-stimulated human umbilical vein endothelial cells. *Cell Transplant.* 2013;22(7):1185-99. doi: 10.3727/096368912X657288. Epub 2012 Oct 1. (**Impact Factor: 4.420**).

Fotopoulou C, Kyeyamwa S, Linder M, Thieme D, Hartenstein S, **Klein O**, Dudenhausen JW, Henrich W, Kalache KD, Bamberg C. Proteomic analysis of midtrimester amniotic fluid to identify novel biomarkers for preterm delivery *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Dec;25(12):2488-93. doi: 10.3109/14767058.2012.712565. Epub 2012 Aug 24. (**Impact Factor: 1.208**)

Scheibe F, **Klein O**, Klose J, Priller J. Mesenchymal stromal cells rescue cortical neurons from apoptotic cell death in an in vitro model of cerebral ischemia. *Cell Mol Neurobiol.* 2012 May;32(4):567-76. doi: 10.1007/s10571-012-9798-2.PMID: 22290155 (**Impact Factor: 2.201**)

Geißler S, Textor M, Kühnisch J, König D, **Klein O**, Ode A, Pfitzner T, Adjaye J, Kasper G, Duda GN. Functional comparison of chronological and in vitro aging: differential role of the cytoskeleton and mitochondria in mesenchymal stromal cells. *PLoS One.* 2012;7(12):e52700. doi: 10.1371/journal.pone.0052700. Epub 2012 Dec 28. PMID: 23285157 (**Impact Factor:3.534**)

Rohe M, Nebrich G, **Klein O**, Mao L, Zabel C, Klose J, Hartl D. Kainate promotes alterations in neuronal RNA splicing machinery. J Proteome Res. 2011 Apr 1;10(4):1459-67. doi: 10.1021/pr101008p. Epub 2011 Feb 24. PMID: 21265575 (**Impact Factor: 5.223**)

Mao L, Römer I, Nebrich G, **Klein O**, Koppelstätter A, Hin SC, Hartl D, Zabel C. Aging in mouse brain is a cell/tissue-level phenomenon exacerbated by proteasome loss. J Proteome Res. 2010 Jul 2;9(7):3551-60. doi: 10.1021/pr100059j.PMID: 20469937(**Impact Factor: 5.223**)

Zabel C, Mao L, Woodman B, Rohe M, Wacker MA, Kläre Y, Koppelstätter A, Nebrich G, **Klein O**, Grams S, Strand A, Luthi-Carter R, Hartl D, Klose A large number of protein expression changes occur early in life and precede phenotype onset in a mouse model for huntington disease. Mol Cell Proteomics. 2009 Apr;8(4):720-34. doi: 10.1074/mcp.M800277-MCP200. Epub 2008 Nov 30. (**Impact Factor: 7.25**)

Danksagung

Der wissenschaftliche Fortschritt ist im Wesentlichen durch interdisziplinäre Zusammenarbeit geprägt. Daher ist es jetzt an der Zeit, sich bei den Menschen zu bedanken, die mir die Erstellung meiner Dissertation ermöglicht haben.

Ich möchte Herrn Prof. Hans-Dieter Volk für die Möglichkeit zur Promotion im interdisziplinären Umfeld des Berlin-Brandenburg Centrum für Regenerative Therapien (BCRT Charité) danken.

Herrn Prof. Georg N. Duda, Prof. Tobias Winkler und Dr. Sven Geissler möchte ich für thematische und wissenschaftliche Unterstützung danken.

Der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Klose möchte ich für die zielführenden Diskussionen und dem kollegialen Umfeld meinen Dank aussprechen.

Bei Prof. Herbert Thiele und Dr. Dennis Trede möchte ich mich für die Bereitstellung der Auswertesoftware und Unterstützung bei der Bearbeitung der Daten danken, die meine Dissertation um einige Aspekte erweitern hat.

Ganz herzlich möchte ich meiner Familie und speziell meinen Eltern danken, die mir erst die Möglichkeit gegeben haben, diesen beruflichen/wissenschaftlichen Werdegang einzuschlagen. Bei meiner Lebensgefährtin Sandra Rebecca Lane möchte ich mich für die emotionale Unterstützung und Rückendeckung bedanken.