

Jennifer Svenja Furkel
Dr. med.

Etablierung einer neuen Hochdurchsatz-Methode zur morphologischen Charakterisierung von Kardiomyozyten auf Einzelzellebene

Fach/Einrichtung: Innere Medizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Mathias Konstandin

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen die führende Todesursache weltweit dar. Insbesondere vor dem Hintergrund einer alternden Population werden Methoden zur Entschlüsselung der zugrundeliegenden Prozesse, zur präzisen Diagnose und Prognose, sowie zur Entwicklung neuer Therapieansätze kardialer Erkrankungen immer wichtiger.

Die Herzinsuffizienz stellt dabei die gemeinsame Endstrecke vieler kardialer Erkrankungen dar und geht mit systemischen Beeinträchtigungen einher. Um einer Progression der Erkrankung entgegenzuwirken, sind eine frühzeitige Diagnosestellung und spezifische Therapie der zugrundeliegenden Ursache essentiell. Auf zellulärer Ebene ist die Hypertrophie der Kardiomyozyten die primäre Streßantwort auf eine erhöhte Volumen- oder Druckbelastung. Qualitative und quantitative Erfassung der zellulären Antwort *in vitro* ist daher ein zentrales Readout kardiovaskulärer Forschung.

Ziel der vorliegenden Dissertationsarbeit war daher die Etablierung einer neuen Methode zur umfassenden morphologischen Charakterisierung von Kardiomyozyten auf aggregierter sowie auf Einzelzell-Ebene, um darauf aufbauend grundlagenwissenschaftliche Fragestellungen zu beantworten und auch translationale Ansätze im Sinne einer „Liquid biopsy“ zu entwickeln.

Initial wurde ein standardisiertes Vorgehen vom experimentellen *in vitro* Ansatz bis hin zur bioinformatischen Datenauswertung entwickelt, welches die Kriterien der reproduzierbaren Forschung und die Voraussetzungen für den Einsatz im Hochdurchsatz Verfahren erfüllt. Hohe Korrelationen zwischen automatisiert und manuell gemessener Messwerte für die Zellgröße, sowie bei der Auswertung der subzellulären Lokalisation des Nuclear Factor of Activated T-Cells, zeigen die Validität der entwickelten Methode.

Darauf aufbauend wurden präklinische und translationale Anwendungen der Methode durchgeführt: Rattenkardiomyozyten wurden mit Hypertrophie Induktoren behandelt, dabei ließen sich sowohl substanzspezifische Reaktionsmuster, als auch gemeinsam regulierte Zellparameter abgrenzen. Auf Einzelzellebene wurden substanzspezifisch reagierende Zellpopulationen identifiziert.

Zudem wurde die Hochdurchsatz Anwendung der Methode getestet, bei der induzierte Hypertrophie über bekannte etablierte Inhibitoren gehemmt wurde. Die Quantifizierung dieser Inhibition über einen Volcano-Plot erlaubt die unkomplizierte Evaluierung von großen Datenmengen, wie sie im Rahmen von Screenings anfallen.

Darüber hinaus konnten mithilfe der Methodik morphologische Phänotypen aufgrund von Mutation im Myosin Binding Protein C3 in humanen aus pluripotenten Stammzellen induzierten Kardiomyozyten charakterisiert werden, während auf Ebene der Zellgrößenanalyse kein Unterschied erkenntlich war.

Der integrierte Ansatz zur morphologischen Charakterisierung geht damit über aktuelle State-of-the-Art Morphologie Analysen hinaus und stellt über das selbst entwickelte R-package

„imgAnalysis“ Werkzeuge zur adaptierbaren komplexen Zellcharakterisierung auf aggregierter und Einzelzelebene bereit.