

## Summary

Pathophysiological conditions, such as myocardial infarction and mechanical overload affect the mammalian heart integrity leading to a stiffened fibrotic tissue. Pathological extracellular matrix production and remodelling has been attributed to cardiac fibroblasts and myofibroblasts while the role of cardiomyocytes in this detrimental process remains unexplored due to lack of primary tissue. In order to identify a potential role for cardiomyocytes during heart remodeling and maladaptive extracellular matrix proteins production as well as to unravel the impact of fibrotic matrix stiffness on cardiomyocytes, pure induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes were cultured on engineered polyacrylamide hydrogels mimicking the elasticities of healthy and fibrotic cardiac tissue for four weeks.

Only in cardiomyocytes cultured on matrices with fibrotic-like elasticity, transcriptional profiling revealed a substantial up-regulation of a whole panel of cardiac fibrosis-associated transcripts, including collagen I and III, decorin, lumican, and periostin. In addition, matrix metalloproteinases and their inhibitors, known to be essential in cardiac remodeling, were found to be elevated. Scanning electron microscopy revealed fibrillar and non-fibrillar matrix deposition on stiff hydrogels corresponding to the mixing of filamentous and jellied extracellular matrix proteins together with proteoglycans. Moreover, periostin and procollagen I, as a secreted precursor of collagen I, were identified in human fibrotic myocardium at sites of direct myocyte-myocyte interactions.

This study provides direct evidence for an active contribution of cardiomyocytes in extracellular matrix production, thus disputing the concept that fibroblasts and myofibroblasts are the sole key players in cardiac extracellular matrix synthesis. In conclusion, I do not only present a snapshot on the transcriptomic fingerprint alterations in cardiomyocytes under fibrotic conditions but also provide a new reproducible approach to further study the underlying complex molecular and cellular mechanisms of cardiac fibrosis.

## Zusammenfassung

Pathophysiologische Zustände, wie z.B. Myokardinfarkt und mechanische Überlastung, beeinträchtigen die Integrität des Herzens, was zu versteiftem fibrotischem Gewebe führt. Die pathologische Erzeugung und Remodellierung der extrazellulären Matrix wird kardialen Fibroblasten und Myofibroblasten zugeschrieben, wohingegen die Rolle von Kardiomyozyten in diesem schädigenden Prozess auf Grund von fehlendem Zugriff auf primäre Gewebe bisher nicht erforscht wurde. Um eine potenzielle Rolle von Kardiomyozyten auf die Remodellierung und die fehlgeleitete Produktion extrazellulärer Proteine zu ermitteln und den Einfluss von Steifigkeit einer fibrotischen Matrix auf Kardiomyozyten zu untersuchen, wurden aufgereinigte pluripotente stammzell-abgeleitete Kardiomyozyten auf Polyacrylamide-Hydrogelen, welche die Elastizität von gesunden und fibrotischen Herzgeweben nachbilden, für vier Wochen kultiviert.

Ausschließlich in Kardiomyozyten, welche auf Matrizen mit einer fibrotischen Elastizität kultiviert wurden, zeigte das transkriptionale Profil eine erhebliche Hochregulierung einer Vielzahl von kardialen fibrose-assoziierten Transkripten, welche Kollagen I und III, Decorin, Lumican und Periostin beinhalteten. Weiterhin wurden Matrix Metalloproteinases und ihre Inhibitoren, welche essenziell für die kardiale Remodelierung sind, in erhöhten Anteilen gefunden. Untersuchungen mittels Rasterelektronenmikroskopie zeigten eine Ablagerung fibröser und nicht fibröser Matrixbestandteile auf steifen Hydrogelen. Außerdem wurde Periostin und Prokollagen I, welche die Vorläuferstufe von Kollagen I darstellt, im humanen fibrotischen Myokardium an Myozyten-Myozyten Kontaktstellen gefunden.

Die vorliegende Studie zeigt, dass Kardiomyozyten einen aktiven Beitrag an der Produktion der extrazellulären Matrix leisten, was das Konzept, dass Fibroblasten und Myofibroblasten die einzigen involvierten Hauptbeteiligten in der Synthese der extrazellulären Matrix sind, in Frage stellt. Zusammengefasst präsentiere ich nicht nur einen Überblick über die Veränderungen des Transkriptom von Kardiomyozyten unter fibrotischen Bedingungen, sondern zeige auch einen neuen, reproduzierbaren Ansatz, um die zugrunde liegenden komplexen molekularen und zellulären Mechanismen der kardialen Fibrose weiteruntersuchen zu können.