

# Candida-Keratitis im 3D-Cornea-Modell und im humanen Hornhauttrepanat

J. Theuersbacher<sup>1</sup>, A. Zimmermann<sup>2</sup>, H. Han<sup>1</sup>, O. Kurzai<sup>2</sup>, C. Lotz<sup>3</sup>, J. Hillenkamp<sup>1</sup>, D. Kampik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Augenklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Würzburg; <sup>2</sup>Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Universität Würzburg; <sup>3</sup>Fraunhofer-Institut für Silicatforschung ISC, Würzburg

Theuersbac\_J@ukw.de

Die Pilzkeratitis ist eine seltene Erkrankung, die häufig trotz maximaler antifungaler Therapie zum Verlust des Sehens und des Auges führt. Insbesondere Hefepilze haben eine stark gewebedestruierende Wirkung, die Pathogenese ist bisher aber nur wenig verstanden.

## Ziele

Die *Candida albicans*-Keratitis des Menschen soll im Zellkulturmodell simuliert werden und in Relation zum infizierten humanen Hornhauttrepanat gestellt werden. Lässt sich die Pathogenese der Pilzkeratitis im 3D-Cornea-Modell erforschen?

## Methoden

Das 3D-Cornea-Modell wurde aufgebaut aus der epithelialen Zelllinie htcEpi (Evercyte, Wien, Österreich) sowie primären Keratozyten, die mit humanem Kollagen Typ 1 (10 mg/ml, Advanced BioMatrix, Carlsbad, USA) in einer Dicke von circa 500 µm als Äquivalent des Stromas kultiviert wurden. Zellkulturmodelle wurden mit  $5 \times 10^4$  Konidien *Candida albicans* infiziert und nach 16, 24 und 48 h für Hämatoxylin-Eosin (HE)-Schnitte fixiert. Die Zytotoxizität wurde mittels LDH-Assay (Cytotoxicity Detection Kit, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) in den Überständen der Zellkulturmodelle gemessen.

Ein humanes Hornhauttrepanat einer *Candida albicans*-Keratitis, gewonnen bei einer Keratoplastik à chaud, wurde mit der Infektion von 3D-Cornea-Modellen in HE-Schnitten verglichen.

## Ergebnisse

### 3D-Cornea-Modell

Im 3D-Cornea-Modell kann nach epithelialer *Candida albicans*-Infektion das Fortschreiten der Gewebsinvasion im Zeitverlauf beobachtet werden. Die Stadien der Infektion können differenziert werden in die Anlagerung des Pilzes am Epithel, die Proliferation der Hyphen, die stromale Invasion und den Gewebsverdau, welcher sich mit einer zunehmend zytotoxischen Wirkung korrelieren lässt (Abb. 3).

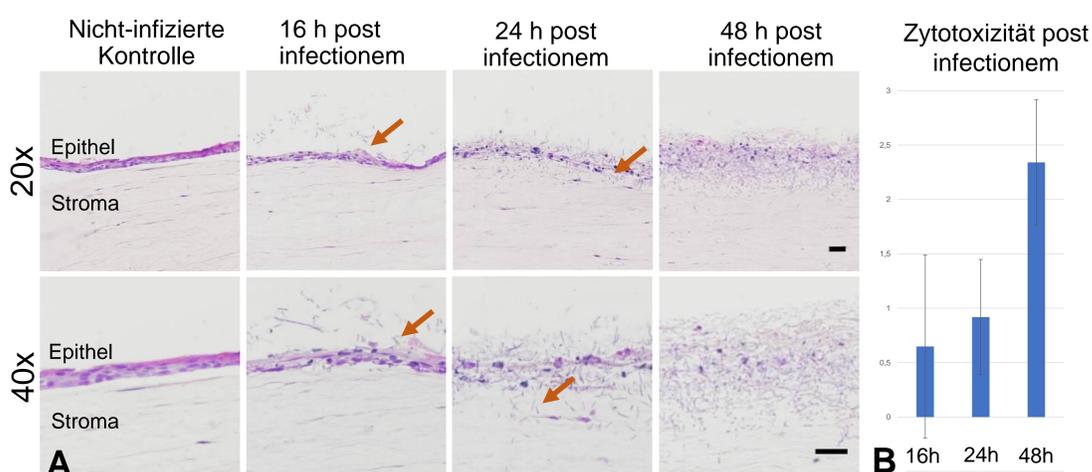


Abb. 3: 3D-Cornea-Modelle 16, 24 und 48 Stunden nach Infektion mit *Candida albicans* A) im histologischen HE-Schnitt (Scale bar 50 µm) mit Proliferation der Hyphen (Pfeile) und deren Eindringen in das Stroma sowie in B) mit der Zunahme der Zytotoxizität im LDH-Assay in den Überständen (n=3).

### Humane Cornea

Im humanen Hornhauttrepanat der *Candida albicans*-Keratitis aus Abb. 1 zeigt sich histologisch die Pilzinfektion ausgehend vom Zwischenraum der Spenderlamelle und Wirtshornhaut. In einer floriden Entzündungsreaktion wurde das Endothel zerstört und die Hyphen drangen korrespondierend zur Gewebsinvasion im 3D-Cornea-Modell ins Stroma ein und proliferierten (Abb. 4).

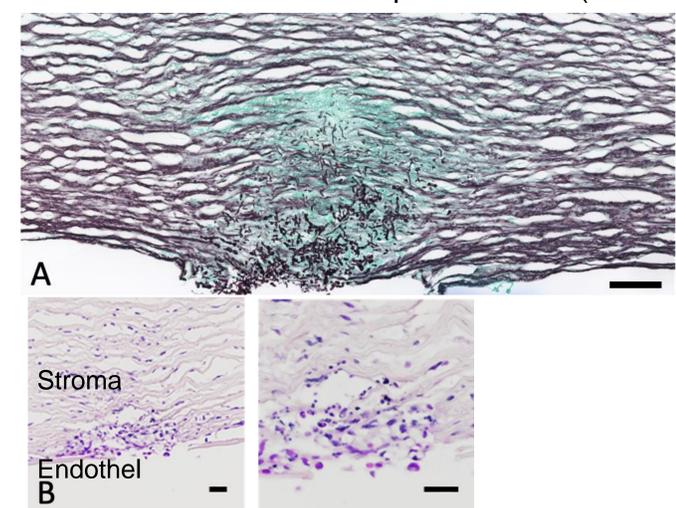


Abb. 4: Histologisches Bild mit schwarz gefärbtem Hefepilz in der Grocott-Gomori-Färbung (A, Scale bar 100 µm) und HE-Färbung (B, Scale bar 50 µm) des Hornhauttrepanats aus Abb. 1 mit Endothelfragmentierung und Pilzproliferation.

## Schlussfolgerung

Im 3D-Cornea-Modell kann die *Candida albicans*-Keratitis durch die Gewebsinvasion vergleichbar zur Infektion im Menschen dargestellt werden. Das Zellkulturmodell könnte unter Verzicht von Tierversuchen die Basis zur Entwicklung neuer Therapien der Pilzkeratitis sein.

