

## 5. Zusammenfassung

Der fakultativ humanpathogene Pilz *C. albicans* besiedelt als harmloser Kommensale Haut und Schleimhäute des Menschen. Als Pathogen spielt *C. albicans* als Erreger von oralen Candidosen vor allem bei immunsupprimierten Patienten eine wichtige Rolle. Kommt es zu Veränderungen der lokalen Mikroflora oder zu Abschwächungen des Immunsystems, wie es z.B. bei HIV<sup>+</sup> Patienten der Fall ist, kann es zu oralen Infektionen durch *C. albicans* kommen. Diese manifestieren sich durch eine massenhafte Vermehrung der Pilzzellen sowie der Invasion in oberflächennahe Bereiche des Epithelgewebes. Die zellulären und molekularen Mechanismen der Interaktionen von *C. albicans* während der Kolonisierung oder der Infektion des oralen Epithelgewebes sind dabei noch weitgehend unklar. Um die komplexen Vorgänge der Wirt-Pathogen Interaktionen während der Infektion zu untersuchen, wurde eine experimentelle Infektion durchgeführt und analysiert. Dazu wurde ein *in vitro* generiertes orales Epithelgewebe (RHE) mit *C. albicans* infiziert und zu verschiedenen Zeitpunkten mikroskopisch analysiert. Basierend auf der mikroskopischen Analyse wurde die experimentelle Infektion in drei Phasen unterteilt: eine frühe Adhäsionsphase (1 h), eine mittlere, invasive Phase (3-6 h) und eine späte Phase (12-24 h), welche durch eine starke Schädigung des epithelialen Gewebes gekennzeichnet war. Die frühe Phase der Interaktion war charakterisiert durch eine unmittelbare Induktion der Hyphenbildung sowie einer starken Adhäsion der Pilzzellen an das epitheliale Gewebe. Analysen der elektronenmikroskopischen Aufnahmen (REM, TEM) zeigten weiterhin, dass die Invasion der *C. albicans* Hyphenzellen in das Gewebe dabei sowohl über passive Mechanismen (induzierte Endozytose) als auch über aktive Mechanismen (aktive Penetration) stattfand. Die späte Phase der experimentellen Infektion war charakterisiert durch ein dichtes Myzelgeflecht, welches sich invasiv im Gewebe ausbreitete und zu einer starken Schädigung des Gewebes führte. Basierend auf den mikroskopischen Untersuchungen erfolgte weiterführend die molekulare Analyse der Interaktionen. Dazu wurden das orale Epithelgewebe über verschiedene Zeitpunkte (1, 3, 6, 12 und 24 h) mit *C. albicans* infiziert und die Proben mit *C. albicans* spezifischen Mikroarrays hybridisiert. Um die Relevanz der Daten aus den experimentellen Infektionen zu überprüfen,

wurden Mikroarray-Experimente mit *in vivo* isolierten Patientenproben durchgeführt und die erstellten Transkriptionsprofile mit den Transkriptionsprofilen der *in vitro* Infektionen verglichen. Trotzdem die Transkriptionsprofile der elf Patientenproben eine unerwartet starke Heterogenität aufwiesen, konnte eine Reihe von Genen identifiziert werden, welche sowohl in den *in vitro* als auch den *in vivo* Proben ähnlich reguliert waren. In dieser Gruppe waren Gene, welche mit dem Hefe/Myzel Übergang, einer adaptiven Anpassung an ein neutrales pH-Milieu, mit der Verwertung verschiedener Kohlenstoff-Quellen sowie der Bekämpfung von nitrosativem Stress assoziiert waren.

Ein weiteres Ziel der Analyse der *in vivo* und *in vitro* erstellten Transkriptionsprofile war es, Gene zu identifizieren, welche möglicherweise mit der Virulenz von *C. albicans* assoziiert sind. Dazu wurden acht Gene ausgewählt, welche stark und spezifisch während der frühen oder der späten Phase der experimentellen Infektion sowie in den Patientenproben exprimiert waren. Diese wurden in *C. albicans* ausgeschaltet und die erstellten Mutantenstämme weiterführend analysiert. Bei der Analyse der Interaktion der erstellten Mutanten mit dem RHE-Modell waren vier der Mutanten leicht bis stark attenuiert in den Fähigkeiten, Gewebeschädigungen zu induzieren. Eine Mutante, in welcher das Gen *EED1* ausgeschaltet worden war, zeigte einen nahezu avirulenten Phänotyp. Das Gen *EED1*, welches sowohl in den Patientenproben als auch während der experimentellen Infektion eine starke Expression gezeigt hatte, stellte sich weiterhin als essentiell für die Hyphenbildung in *C. albicans* heraus.  $\Delta eed1$  Mutanten waren gekennzeichnet durch eine lediglich transiente Hyphenbildung und einem daraus resultierenden, auf oberflächliche Gewebebereiche begrenzten, invasiven Wachstum. Die weiterführende Proliferation der  $\Delta eed1$  Mutante fand in den Epithelzellen und -gewebe dabei nur noch in der Hefeform statt, so dass keine invasive Ausbreitung mehr im Gewebe stattfinden konnte.

Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass die Hyphenmorphologie sowie die adaptive Interaktion der *C. albicans* Zellen mit dem Epithelgewebe eine wichtige Rolle bei der Initiation und der Etablierung einer oralen Infektion spielen.