

"Quorum sensing": mikroorganizmalar iletişim mi kuruyor?

Mehmet Ali Saraçlı (*)

Özet

Birçok Gram pozitif ve negatif bakteri ve mantarlar birbirleri ile farklı sinyal molekülleri aracılığıyla iletişim kurmaktadır. Bu sinyal moleküllerini üretmekle birlikte, mikroorganizmalar bu moleküllerin konsantrasyonunu ölçerek çevrelerindeki mikrobiyal topluluğun miktarı hakkında da bilgi sahibi olmaktadır. Böylece iyi koordine olmuş bir davranış sergilemekte, konağın immün yanıtından kaçabilmek için virülans faktörlerini regüle etmekte ve başarılı bir enfeksiyon süreci geliştirmektedir. Bu bağlamda, eğer "Quorum Sensing" sistemi (sinyal yolları) bloke edilebilirse enfeksiyon gelişimi önenebilecek, yeni, daha güvenli ve güçlü antibiyotikler üretilebilecektir.

Anahtar kelimeler: Mikroorganizma, "Quorum Sensing"

Summary

"Quorum sensing": Do the microorganisms communicate?

Many Gram positive and negative bacteria, and fungi communicate with each other by means of different signal molecules.

As well as releasing the signalling molecules, microbes are also able to measure the concentration of the molecules in their environment as a clue of the number of microbial population. By this way, they behave in a well-coordinated manner, regulate their virulence factors in order to escape from the immune response of the host and establish a successful infection process. In this respect, if we can block the quorum sensing systems (signaling pathways) we may be able to prevent development of an infection, to produce new, safer and more powerful antibiotics.

Key words: Microorganism, Quorum Sensing

Giriş

Bakterilerin birbirleri ile iletişim kurduklarının gösterilmesi, mikroorganizmaların oluşturduğu dünya hakkındaki düşüncelerimizi değiştirmiştir. Bu iletişimde kullanılan dil, mikroorganizmaların çevreye saldıkları sinyal moleküllerinden oluşmaktadır. Bakteriler ürettikleri sinyal moleküllerinin yoğunluğunu ölçebilmekte, böylece çevrelerindeki diğer mikroorganizmaların miktarını hissedebilmektedir. Son zamanlarda kullanılmaya başlanan "Quorum Sensing" (QS) terimi de bu özellikten hareketle "Quorum: salt çoğunluk" ve "sense: hissetme" kelimelerinden oluşturulmuştur.

Tarihsel Gelişim

İlk QS incelemeleri, serbest yaşayan iki deniz vibriosu olan *Vibrio fischeri* (*V. fischeri*) ve *Vibrio harveyi* (*V. harveyi*) üzerinde gerçekleştirilmiştir ve 1960'lara dayanmaktadır. Normalde deniz suyunun mililitresinde 100'den daha az sayıda olan bu iki bakterinin serbest yaşarken ışımaya (biyoluminesans) yapamamaları, ancak bazı deniz balıkları ve mürekkep balıklarının ışık organellerinde 10^{10-11} /ml düzeyinde konsantrasyonlarında çevreye ışık yaymaya başlamaları dikkatleri çekmiştir. Önceleri, besiyeri ortamında gerçekleştirilen deneylerde bu durum besiyerinde mevcut olan bir inhibitörün yüksek bakteri sayılarına ulaşıldığında uzaklaştırılabilmesi ile açıklanmıştır (1). Ancak daha sonra, ışımaya görülen bir kültürün dilüe edilmesi sonucunda ışımının kayboluyor olması veya biyoluminesans görülen bir kültürün süpernatant kısmının az sayıda bakteri içeren bir başka kültüre eklendiğinde ışımının ortaya çıkıyor olması nedeniyle ışımının başlama sebebinin bir inhibitörün uzaklaştırılmasından değil, bir aktivatörün birikmesinden kaynaklandığı gösterilmiştir (2,3). Bakterilerce üretilen sinyal molekülü bazal seviyede normal olarak

*GATA Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD

Bu derleme, XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi/Antalya'da (12-16 Eylül 2006) özet olarak sunulmuştur

Ayrı basım isteği: Dr. Mehmet Ali Saraçlı, GATA Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD, Etlik-06018, Ankara

E-mail: masaracli@gata.edu.tr

Makalenin geliş tarihi: 12.06.2006

Kabul edilme tarihi: 05.09.2006

üretilemekle birlikte, mikroorganizma sayısının belirli bir düzeye ulaşması ile birlikte bir eşik değerine ulaşmakta ve daha sonra hem sinyal molekülünün kendisinin hem de kontrol edilen virulans faktörünün üretimini artmasına neden olmaktadır (1,4). *Vibrio fischeri* tarafından üretilen QS molekülü ilk kez 1981 yılında saflaştırılmış ve N-3-oxo-C6 (3-oxo-hexanoyl)-homoserin lakton (açıl-HSL) yapısında olduğu gösterilmiştir (5). S-adenosyl methionine türeviden olan bu açıl-HSL molekülünün sentezinden sorumlu olan genler tanımlanmış ve QS araştırmaları için örnek sistem olarak kabul edilmiştir (6). Esasen her iki vibrionun ürettiği oldukları QS molekülü de N-açıl-HSL (AHL) yapısında olmakla birlikte, aralarında yan zincir yapılarında farklılıklar gözlenmiştir. QS moleküllerinin "auto-inducer (AI)" olarak ifade edilmelerinin nedeni, üretildikleri hücrenin metabolizması üzerinde düzenleyici etki göstermeleridir (7-9).

Yıllar boyunca AHL temeline dayanan QS çalışmalarının *V. fischeri* ve *V. harveyi* gibi deniz bakterileri ile sınırlı olduğu düşünülmüş, ancak antibiyotik sentezine yönelik çalışmalar bunun böyle olmadığını göstermiştir. 1990'ların başında, karbapenem antibiyotik üretemeyen *Erwinia carotovora* bakterisinin farklı bir mutant bakteri grubu ile birlikte olduğunda diğer bakteri tarafından sağlanan sinyal molekülü sayesinde antibiyotik sentezine yeniden başladığı gösterilmiş, bu molekülün *V. fischeri* de ışığı tetikleyen molekül ile aynı yapıda olduğunun görülmesi yeni çalışma alanları doğurmuştur (10). Daha sonra *Enterobacter*, *Hafnia*, *Rahnella* ve *Serratia* gibi birçok bakteri cinsinde ve mantarlarda değişik QS sistemleri saptanmıştır. Ancak, kimi durumlarda hücresel metabolitler ile QS moleküllerinin ayırt edilmesi güçtür. Bu nedenle gerçek bir QS

molekülünün bir metabolitten farklı olarak taşınması gereken özellikler şöyle özetlenmektedir:

1. QS molekülünün üretimi üretiminin değişik basamaklarında, özel fizyolojik koşullar altında veya çevresel değişikliklere cevap olarak ortaya çıkar.

2. QS molekülü ekstrasellüler olarak birikir ve özgün reseptörler tarafından algılanır.

3. QS molekülünün birikmesi kritik bir eşik değerine ulaştığında planlanmış bir cevabı doğurur.

4. QS molekülün doğurduğu hücresel cevap, QS molekülünün metabolize veya detoksifiye edilmesinden çok daha geniştir.

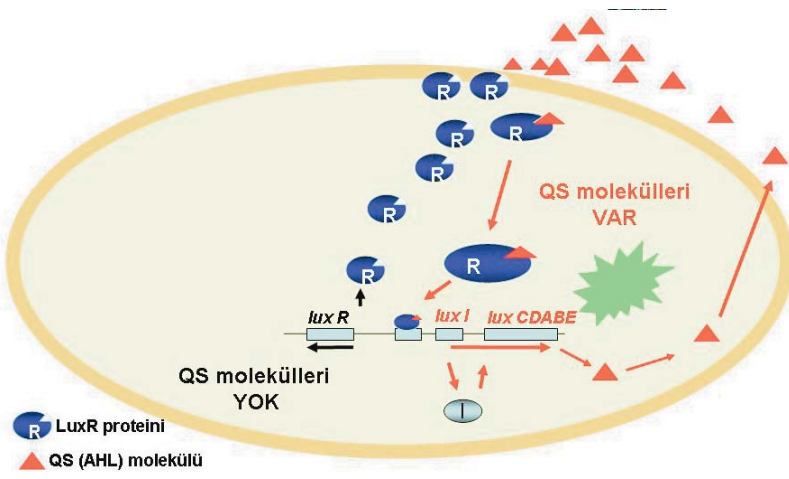
Bu dört özellikten ilk üçünü birçok metabolit de gösterirken, dördüncü özellik bir QS molekülünün mutlaka taşınması gereken bir özelliktir (11).

QS moleküllerindeki çeşitlilik: Aynen farklı insan topluluklarının farklı diller kullanmaları gibi, farklı mikroorganizma türleri de genellikle farklı QS moleküllerini kullanan mikroorganizmalar da birbirleri ile anlaşamamaktadır. Sinyal molekülleri AHL, "autoinducer peptidler (AIP)" ve "autoinducer 2 (AI-2)" bileşikleridir başta olmak üzere birkaç farklı sınıfta incelenir. Her bir sınıf içerisinde yan zincir uzunluk farklılığı gibi küçük değişiklikler de söz konusudur. Bazı mikroorganizmalar ise birden fazla farklı QS molekülü kullanmaktadır. Aynen bir dildeki farklı kelimelerin farklı anlamlar taşınmaları gibi, farklı QS moleküllerinin doğurduğu yanıtlar da farklı olmaktadır (12,13). Bununla birlikte, farklı türler arasında aynı QS molekülleri aracılığıyla iletişim kurulabildiğinin delilleri de mevcuttur. Bu tarz çapraz iletişim özellikleri karma mikroorganizma topluluklarının bir arada olduğu biyofilmlerde önemlidir (13).

Açıl Homoserin Lakton (LuxI/LuxR)

tipi "quorum sensing" iletişimi: AHL tipi QS iletişimi daha çok Gram negatif bakterilerde gösterilmiştir. Biyoluminesanstan sorumlu genler karakterize edilmiş ve iki operonda organize olmuş yedi gen (*luxR*, *luxI*, *luxC*, *luxD*, *luxA*, *luxB* ve *luxE*) tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir. Bu genlerden *luxA* ve *luxB* genleri lusiferaz enziminin alfa ve beta alt birimlerini kodlar. *luxC*, *D* ve *E* genleri ise lusiferaz enzimi sentezinde gerekli olan aldehid substratların sentezi ve geri kazanılmasında görev alır. *luxI*, AHL sentezinde gerekli olan bir gen iken, *luxR*, AHL transkripsiyonunu kontrol eden bir regülatörü kodlar. *luxI* mutantlarına AHL sağlanması kaybolmuş olan fonksiyonu düzeltir, ancak AHL sentez edilemez. Buna karşılık *luxR* mutantlarına AHL sağlanması fonksiyonu düzeltmez ve ölçülebilir düzeyde AHL sentezi de gerçekleşemez. *LuxR* proteini ile AHL'nin birleşmesi *LuxR*'nin üç boyutlu yapısında değişikliğe, DNA'ya bağlanabilmesine ve *lux* operonunun (*luxCDABE*) ve *luxI*'nin transkripsiyonunun aktivasyonunu sağlayarak lusiferaz üretimine neden olur. *Lux* operonunun ve *luxI* geninin aktive olması daha fazla AHL üretimini doğurur ve üretilen AHL' nin *LuxR* ile birleşmesinin tetiklediği bir pozitif geri besleme sağlayarak da ışımada hızlı bir artışa neden olur. Bu bilgiler ışığında *V. fischeri*'nin esas alındığı örnek bir AHL sistemi Şekil 1'de özetlenmiştir. *Vibrio harveyi*, *V. fischeri*'den farklı olarak iki farklı AHL QS sistemine sahiptir. Bunlardan birisi N-açıl-HSL, diğeri ise 3-hydroxy-C4-HSL'dir. Ayrıca AHL genleri de *V.fischeri*'nin homolog *luxR* ve *luxI* genlerinden farklıdır (12,14).

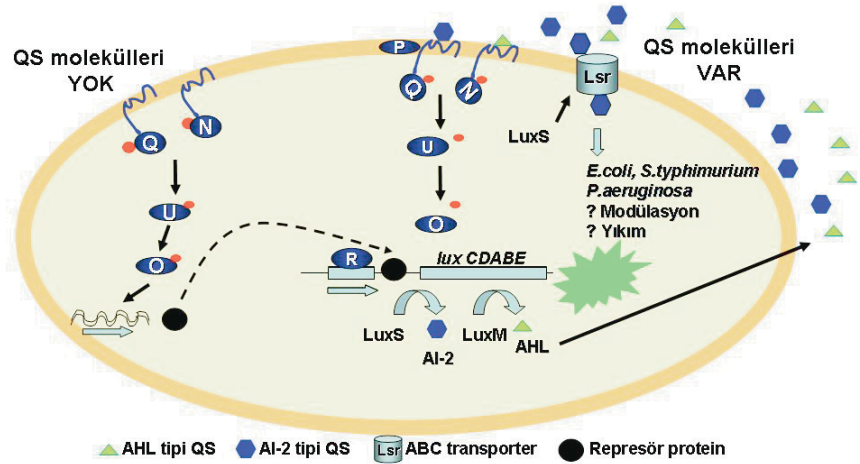
Autoinducer 2 tipi "quorum sensing" iletişimi: Gram negatif ve pozitif birçok bakteri tarafından üretilen ve *luxS* geni tarafından kodlanan AI-2 ilk kez *V. harveyi*'de, daha sonra *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*,



Şekil 1. *Vibrio fischeri*'de AHL (LuxI/LuxR) tipi "quorum sensing" iletişimi. Ortamda quorum sensing molekülleri yeterli sayıda değilken gen ekspresyonu luxR geni yönünde gerçekleşirken, quorum sensing moleküllerinin yeterli sayıya ulaşmaları ve LuxR proteini ile birleşmeleri ile başlayan süreç sonucunda ise gen ekspresyonu luxI/lux CDABE operonları yönünde gerçekleşerek biyoluminesansın ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Detay açıklamalar için metine başvurunuz (33 ve 34 nolu kaynaklardan üretilmiştir)

Neisseria meningitidis, *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Shigella flexneri* ve *Salmonella typhimurium* gibi birçok mikroorganizmanın kültür süpernatantlarında gösterilmiştir. *Vibrio harveyi* AHL temelinde dayanan iki farklı QS sistemine ilave olarak AI-2 molekülünü de QS amaçlı olarak kullanmaktadır. AHL ve AI-2 sistemlerinin ikisi de biyoluminesans genlerini kontrol eder (15). Winzer ve ark. AI-2'nin 3(2H)-furanone yapısında olduğunu ve yapıca 4-hydroxy-5-methyl-3 (2H)-furanone'a çok benzediğini, ancak onun bir yıkım ürünü olmadığını gözlemlemişlerdir (16). LuxM proteini tarafından üretilen AHL sinyali LuxN proteini tarafından alınırken, AI-2 sinyali, *luxS* geni tarafından kodlanan LuxS'nin LuxR homoloğu olan LuxP'ye bağlanması ile LuxQ proteinine iletilir. Membrana bağlı histidin kinazlar olan LuxN ve LuxQ proteinleri sinyali hücre içine çok basamaklı fosforilasyonlar aracılığıyla iletir (17). LuxN ve LuxQ proteinleri tarafından taşınan sinyal yolları LuxO proteininde birleşir. LuxO düşük hücre yoğunluğunda fosforile edilmiş bir durumdadır ve *luxCDABE* gen-

lerinin transkripsiyonunu bloke eden bir represör proteinin transkripsiyonunu aktive eder. Yüksek hücre yoğunluğunda ise LuxN ve LuxQ, LuxO'yu defosforile eder ve bu durumda represör proteinin sentezi gerçekleşmeyeceğinden transkripsiyon aktivatörü LuxR (*V.fischeri* Lux R proteininden farklıdır) *luxCDABE* gen ekspresyonunu uyarır. *Vibrio harveyi*'nin esas alındığı özet bir AI-2 yolu Şekil 2'de gösterilmiştir (13).



Şekil 2. *Vibrio harveyi*'de AHL ve AI-2 tipi "quorum sensing" iletişimi. *Vibrio harveyi* bakterisinde AHL ve AI-2 esasına dayanan iki quorum sensing yolu saptanmış olup, bu iki yolak membrana bağlı histidin kinazlar olan LuxQ ve LuxN aracılığıyla LuxO proteininde birleşen bir sinyal iletişimi sağlarlar. Detay açıklamalar için metine başvurunuz (35 ve 36 numaralı kaynaklardan üretilmiştir)

Salmonella typhimurium gibi bazı bakteriler ise AI-2 sinyalini membrana bağlı sensör kinazlar aracılığı ile iletmez. Bunun yerine lsr operonunun indüklediği LuxS tarafından kontrol edilen bir ABC transporter (Lsr) aracılığı ile hücre dışına salgılanan AI-2'nin kendisini hücre içine alır ve hücrede transkripsiyonel değişiklikler ortaya çıkar (12,16). *Escherichia coli* ve *S.typhimurium* gibi AI-2 üretebilen ve *P.aeruginosa* gibi AI-2 üretemeyen bazı bakterilerin ise AI-2 molekülünü hücre içine aldıktan sonra parçaladıkları saptanmıştır. Bu sentez/yıkım sürecinin nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Muhtemel gerekçeler arasında bir negatif geri besleme mekanizmasının olması, hücre içindeki riboz içeren değerli bileşiklerin gereksiz kaybının önlenmesi, DNA'ya hasar verebilen bu molekülün aşırı birikmesinin engellenmesi ya da aynı molekülü haberleşmede kullanan diğer türler arasındaki iletişimi koparmak sayılabilir. Hatta AI-2'nin QS molekülü olmaktan başka erken fazda üretilip sonradan kullanılan bir metabolit veya bir toksik metabolit de olabileceği iddia edilmektedir (11,16).

Pseudomonas aeruginosa'da "quorum sensing": Önemli bir insan patojeni

olan *Pseudomonas aeruginosa* birden çok QS sistemine sahiptir. Önemli bir virülans faktörü olan elastaz üretimini kontrol eden PAI-1 molekülünün 3-oxo-C12-HSL yapısında olduğu ve lasI/lasR genlerince kontrol edildiği gösterilmiştir (18,19). PAI-1 sistemi dens bir biyofilm oluşumu için de gereklidir. Psödomonaslarda PAI-1 sistemine ilave olarak, siliostatik etkili rhamnolipid hemolizin üretimini *rhlI/rhlS* genleri üzerinden C4-HSL yapısında bir QS molekülü ile kontrol eden ve PAI-2 olarak ifade edilen ikinci bir sistem daha vardır (7,20). Bu iki AHL temeline dayanan sistem yanında bir de kinolon (2-heptyl-3-hydroxy-4-quinolone) yapısında üçüncü bir sistem daha saptanmıştır. *Pseudomonas* quinolone sinyal (PQS) molekülü olarak adlandırılan bu molekül ise las ve rhl sistemleri arasında bir ara düzenleyici olarak işlev görmektedir (7). QS molekülleri psödomonas virülans genlerinin ekspresyonunu artırmalarına ilave olarak, konağın immün yanıtını da etkileyerek daha invaziv enfeksiyonların ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır. Bu iki sistemden PAI-1 hücre proliferasyonunu ve interlökin-2 (IL-2) salınmasını inhibe ederken, PQS IL-2 salınmasını etkilemeksizin hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir. Ancak, mitojen stimülasyonu sonrasında her iki molekül de hem hücre proliferasyonunu hem de IL-2 salınmasını engellemişlerdir (21).

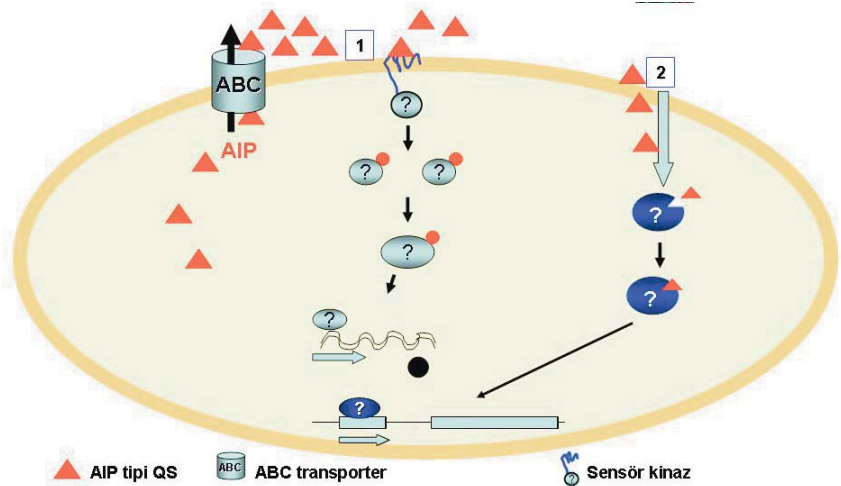
Autoinducer peptidler: Özellikle Gram pozitif bakteriler tarafından üretilen ve "autoinducer" peptidler (AIP) olarak ifade edilen QS moleküllerinin birçoğu translasyon sonrası değişikliğe uğrayan büyük peptidlerden üretilir. AIP, Gram negatif bakterilerin aksine hücre içinden dışarıya difüzyonla değil genellikle hücre zarında bulunan ATP-binding cassette (ABC transporter) sistemince aktif olarak salgılanır. Hücre dışı QS molekülleri, ya membrana bağlı sen-

sör kinazlara bağlanır ve hücre içinde bir veya daha fazla sayıda genin ekspresyonunu kontrol eden düzenleyicilerin fosforilasyonu yoluyla hücrede transkripsiyonel değişikliklere neden olur, ya da bazı bakterilerde olduğu gibi oligopeptid permeazlar aracılığı ile doğrudan hücre içine girerek hücre içi reseptörler ile kendileri etkileşime geçer (12,14,22). *Staphylococcus aureus* virülans genleri, *Bacillus subtilis* ve *Streptococcus pneumoniae*'nin kompetans (DNA alım) genleri, *B. subtilis*'de sporulasyon, *Enterococcus faecalis*'de konjugatif plazmid transferi ve laktik asid bakterilerinde bakteriosin üretimi QS molekülleri aracılığı ile kontrol edilmektedir. AIP aracılığı ile muhtemel sinyal iletiminin şematik ifadesi Şekil 3'de tanımlanmıştır. *Staphylococcus aureus*'da QS moleküllerinin miktarının azlığı biyofilm oluşumunu tetiklemekte, miktarının artması ise bakterilerin biyofilmden ayrılarak invazyon yapmalarına neden olmaktadır. Ayrıca, QS inhibitörü varlığında üretilen biyofilmlerin de antibiyotik ve dezenfektanlara daha duyarlı oldukları bilinmektedir. Bir diğer ilginç nokta ise, *S.aureus*' un QS moleküllerinin *S.epi-*

dermidis üzerinde etkisi yokken, *S.epidermidis*'in QS molekülü *S. aureus*'un epidermal invazyon yeteneğini kontrol etmektedir (7-9, 12,23).

Gram pozitif bakterilerde QS sinyali olarak kullanılan bir diğer molekül ise "butyrolactone"dur. Bazı *Streptomyces* türleri tarafından aerial miçelyum üretimi, antibiyotik sentezi ve antibiyotik direncini kontrol amacıyla üretilir (14,22,24).

Mantarlarda "quorum sensing": Mantarlarda QS çalışmaları bakterilerden çok daha yenidir. Bir insan patojeni olan *Candida albicans*'ın hücre morfolojisinin "farnesol" tarafından kontrol edildiği 2001 yılında tanımlanmıştır (25). Üç farklı tetikleyicinin (L-proline, N-acetylglucosamine, domuz ve sığır serumları) varlığında farnesol adı verilen molekülün germ tüp oluşumunu önlediği gösterilmiştir. Bu ekstrasellüler molekülün oldukça termostabil olduğu, 23-43°C aralığında maya hücre miktarıyla doğru orantılı miktarlarda üretildiği, farklı *C.albicans* kökenleri üzerinde etkili olduğu ve besiyeri bileşimi ve yapısından etkilenmediği saptanmıştır. Kırtan fazla farnesol analogunun test edildiği bir çalışmada, QS aktivitesinin mole-



Şekil 3. Gram pozitif bakterilerde AIP tipi "quorum sensing" iletimi. Başlıca Gram pozitif bakterilerde görülen AIP tipi quorum sensing iletiminde AIP molekülleri bir ABC transporter sistemi tarafından hücre dışına salgılanır. Daha sonra; (1) Ya taşıdıkları sinyal bir membrana bağlı sensör kinaz aracılığıyla dolaylı olarak hücre içine iletilir, (2) ya da AIP'nin kendisi girerek transkripsiyonel değişikliklere sebep olur. Detay açıklamalar için metine başvurunuz (14 ve 22 numaralı kaynaklardan üretilmiştir)

külün yapısıyla oldukça ilişkili olduğu, bu bulgunun da bir farnesol reseptörü ile özgün iletişimden kaynaklandığı gösterilmiştir (26). Aynı araştırmacılar QS aktivitesi gösteren işaretli problemlerle yaptıkları incelemeler sonucunda QS moleküllerinin hücre içine alındığını göstermişlerdir (27).

Gastrointestinal lümende maya formunda bulunan *C.albicans*'ın invazyon yaparak patojenite gösterebilmesi için germ tüp oluşturması zorunludur. Farnesol'un bu dönüşümü engelleyebilmesi yeni bir sınıf antifungal olarak, özellikle immün baskılanmış kişilerde kullanılabilirliğini de düşündürmektedir. Ancak, bu in vitro etkinin aksine, in vivo şartlarda lipofilik farnesolün birikiminin intestinal membran geçirgenliğini değiştirmesi ve protein kinaz C aktivitesini diaçil gliserol üretimini azaltarak düşürmesi ve böylece apoptoza yol açması nedeniyle küçük bir alanda çok sayıda birikmiş olan maya hücrelerinin sistemik dolaşıma girişine zemin hazırlayabileceği de ifade edilmektedir (25).

Candida albicans, birlikte ürettiği *Enterococcus faecalis* gibi bazı bakterilerin ve konağın fagositlerinin ürettikleri hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu gibi oksidatif streslerden de farnesol aracılığı ile korunmaktadır. Stasyonel fazdaki *C. albicans* kültür süpernatanlarının logaritmik üreme dönemindeki *C. albicans* kültürlerine eklendiğinde, normalde öldükleri oksidatif stres altında yaşamlarını sürdürdüklerini, bu direncin *CAT1*, *SOD1*, *SOD2* ve *SOD4* gen ekspresyonunda artış sonucu ortaya çıkan antioksidan moleküller sayesinde olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, diğer bir QS molekülü olan alfatocopherol'ün böyle bir koruyucu etki oluşturmadığı, etkinin farnesol'e bağlı olduğu da saptanmıştır (28).

Farnesol *Candida parapsilosis*'in

krep, krater, konsantrik ve düz koloni varyantları üzerinde denenmiş, düz tip koloni varyantı dışındakilerin biyofilm oluşturmalarını önlediği gözlenmiştir (29). Ayrıca, farnesolün ölçülebilir miktarda QS molekülü üretmeyen *Aspergillus nidulans*'ın morfogenezine etkili olmamasına karşın üreme ve gelişmesini azalttığı, apoptozunu tetiklediği gösterilmiştir. Buradan hareketle de *C. albicans*'ın, birlikte bulunduğu diğer mikroorganizmalara karşı avantaj sağlamada QS moleküllerini kullandığı söylenebilir. Benzer inhibitör etki *A.fumigatus* ve *Fusarium graminearum* üzerinde de gözlemlenmiştir (30).

Bir diğer dimorfik mantar olan *Ceratocystis ulmi*'de de benzer etkiler gösteren bir QS molekülü gösterilmiş olup, bu molekülün *C. albicans* üzerinde etkili olmadığı ve bu türün de farnesoldan etkilenmediği gösterilmiştir (31). Bir diğer çalışmada ise 50 *Penicillium* türünün ürettikleri 100 ekstraktan 33'ünün *P.aeruginosa* QS molekülleri üzerinde inhibitör etkili oldukları görülmüş, bunlardan patulin ve penisillik asidin QS moleküllerinin kontrol ettiği genlere olan etkisi DNA microarray yöntemi ile ispatlanmıştır. Patulin'in *P.aeruginosa* biyofilminin tobramisine olan duyarlılığını artırdığı, *P.aeruginosa*'nın PMN lökositlerin oksidatif yollarına olan blokajını kaldırdığını ve hem patulin hem de penisillik asit tedavisinin nötrofilleri aktive ettiği saptanmıştır. Ayrıca, fare akciğer enfeksiyon modelinde patulinle tedavi edilmiş farelerin psödomonas bakterilerini plaseboya göre daha çabuk ortadan kaldırdıkları bulunmuştur (23).

"Quorum sensing" molekülleri üzerindeki çalışmaların önemi: Mikroorganizmalar, birbirleri ile koordineli davranmaları, çevresel şartlardaki değişimlere çabuk cevap vermeleri ve uyum gösterebilmeleri sayesinde hayatta kalabilmeleri, mevcut besin maddelerinin kullanılmasında yarış-

tıkları diğer mikroorganizmalara karşı avantaj sağlamaları, toksik bileşiklerden korunmak amacıyla biyofilm oluşturmaları ve antibiyotik ile spor üretmeleri gibi birçok yanıtı QS molekülleri aracılığıyla kontrol eder. Başarılı bir enfeksiyon süreci mikroorganizmaların QS moleküllerince kontrol edilen bu virülans faktörleri sayesinde konağın immün yanıtından kurtulabilmelerine bağlıdır (12). Bu noktadan hareketle, QS araştırmalarının en muhtemel yararı, mikroorganizmalar arası sinyal iletişimini bozarak mikroorganizma topluluklarının kontrol altında tutulmasıdır.

QS molekülleri ile ilgili araştırmaların üç temel stratejide toplandığı görülmektedir:

a) *QS molekülünün üretimini önlenmesi*: Önemli QS moleküllerinden birisi olan AHL, S-adenozil metiyoninden sentezlendiğinden dolayı, bu aminoasidin analogları QS sentezini önlemek için denemektedir. İlave olarak, bir makrolid olan eritromisin tam bilinmeyen bir mekanizma ile ribozomal düzeyde QS molekül sentezini engelleyebilmektedir. Psödomonas QS molekülü olan PQS'nin antranilattan sentezinin metil-antranilat ile bloke edilmesi deneysel olarak elastaz gen ekspresyonunu önleyerek alternatif bir tedavi yaklaşım örneği oluşturmuştur (7,12). Ayrıca, QS inhibitörü varlığında üretilen *S.aureus* biyofilmlerinin antibiyotik ve dezenfektanlara daha duyarlı oldukları bilinmektedir.

b) *QS molekülünün yıkılması veya inhibisyonu*: QS sinyalinin yayılmasını önlemenin en bilinen yolu yıkıma uğratılmasıdır. Bazı Bacillus türleri üretmiş oldukları bir enzim aracılığı ile AHL molekülünü parçalayarak etkisiz hale getirirlerken, bir toprak bakterisi olan *Variovorax paradoxus* AHL'u tek enerji ve azot kaynağı olarak kullanmaktadır. Bu bakterilerin klinik önemi bilinmemekle birlikte, AHL yıkan enzimlerin klinik

önem taşıyabilecekleri açıktır. Doğada bazı bitki ve mantarlar, birlikte simbiotik olarak yaşadıkları bakteri popülasyonunun miktarını, bakterilerin üretmiş oldukları AHL sinyal iletişimini bozarak kontrol altında tutmaktadır. Bu kontrolün en bilinen örneği bir kırmızı makroalg olan *Delisea pulchra*'nın üretmiş ve veziküllerinde depolamış olduğu furanon bileşikler ile kendisine zararlı olabilecek bakteri kolonizasyonunu önlemesidir. Bu molekülün insan patojeni *P.aeruginosa* ve *Serratia liquefaciens* QS moleküllerini de inhibe ettiği gösterilmiştir (32).

c) QS sinyalinin alınmasının önlenmesi: QS sinyalinin alınmasını önlemek amacıyla reseptöre karşı yarışan AHL analogları denenmektedir. Bu analoglar genellikle AHL molekülünün yan zincirlerini uzatarak türetilmektedir. AHL molekülünün reseptörü sitoplazmik veya membranın sitoplazmik yüzünde yerleşik olan LuxR proteini, AIP sinyalinin reseptörü ise membrana bağlı histidin kinazlardır. AI-2 molekülü ise ya AHL benzeri şekilde LuxR homologu LuxP ile etkileşir veya Lsr transporter molekülü ile hücre içine girerek etki gösterir. Bu noktadan hareketle, *D.pulchra*'nın ürettiği bileşiklerden birisinin LuxR proteinine bağlanarak AHL' nin ayrılmasına neden olduğu ve böylece *S.liquefaciens*'in buğu tarzı üremesini bozduğu saptanmıştır (4,12,14).

Daha ilginç bir mekanizma ise, bazı bitkilerin ürettikleri AHL analogu bileşikler ile *Bacillus cereus* tarafından antibiyotik sentezini tetikleyerek kendileri için zararlı olan *Pythium torulosum*'un üremesini önlemeleridir (12).

Sonuç olarak, birçok mikroorganizma türü sosyal bir davranış sergilemektedir. Üretmiş oldukları sinyal molekülleri aracılığı ile birbirleri ile iletişim kurmakta, belirli bir yoğunluğa ulaşıp ulaşmadıklarını izlemekte

ve yeter çoğunluğa ulaştıkları anda da virülans faktörlerinin sentezi gibi kritik gen ekspresyonlarını tetiklemektedir. Böylelikle, konağın bağışıklık sistemini zamanından önce uyararak başarılı bir enfeksiyon sürecini oluşturmaktadır. Öte yandan, QS molekülleri aracılığı ile gerçekleştirilen iletişimin bozulması durumunda ise mikroorganizmaların koordineli davranamayacakları ve başarılı bir enfeksiyon süreci ortaya koyamayacakları açıktır. Bu açıdan bakıldığında, QS çalışmalarının yeni ve önemli bir antibiyoterapi alanı olduğu görülmektedir.

Kaynaklar

1. Kempner ES, Hanson FE. Aspects of light production by *Photobacterium fischeri*. J Bacteriol 1968; 95: 975-979.
2. Nealson KH, Platt T, Hastings JW. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescence system. J Bacteriol 1970; 104: 313-322.
3. Eberhard A. Inhibition and activation of bacterial luciferase synthesis. J Bacteriol 1972; 109: 1101-1105.
4. Hentzer M, Givskov M. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. J Clin Invest 2003; 112: 1300-1307.
5. Eberhard A, Burlingame AL, Eberhard C, Kenyon GL, Nealson KH, Oppenheimer NJ. Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. Biochemistry 1981; 20: 2444-2449.
6. Engebrecht J, Nealson K, Silverman M. Bacterial bioluminescence: isolation and genetic analysis of functions from *Vibrio fischeri*. Cell 1983; 32: 773-781.
7. Donabedian H. Quorum sensing and its relevance to infectious diseases. J Infect 2003; 46: 207-214.
8. Lazazzera BA, Grossman AD. The ins and outs of peptide signalling. Trends Microbiol 1998; 6: 288-294.
9. Novick RP, Muir WM. Virulence gene regulation by peptides in staphylococci and other Gram-positive bacteria. Curr Opin Microbiol 1999; 2: 40-45.
10. Bainton NJ, Stead P, Chhabra SR, et al. N-(3-oxohexanoyl)-L-homoserine

lactone regulates carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora*. Biochem J 1992; 15: 997-1004.

11. Winzer K, Hardie KR, Williams P. Bacterial cell-to-cell communication: sorry, can't talk now-gone to lunch! Curr Opin Microbiol 2002; 5: 216-222.
12. Raffa RB, Iannuzzo JR, Levine DR, et al. Bacterial communication ("Quorum Sensing") via ligands and receptors: a novel pharmacologic target for the design of antibiotic drugs. J Pharmacol Exp Ther 2005; 312: 417-423.
13. <http://www.nottingham.ac.uk/quorum/what2.htm> (Erişim tarihi: 30 Mayıs 2006).
14. http://plantbio.berkeley.edu/~courses/pmb148/quorum_sensing.htm (Erişim tarihi: 30 Mayıs 2006).
15. Bassler BL, Wright M, Showalter RE, Silverman MR. Intercellular signalling in *Vibrio harveyi*: sequence and function of genes regulating expression of luminescence. Mol Microbiol 1993; 9: 773-786.
16. Winzer K, Hardie KR, Burgess N, et al. LuxS: its role in central metabolism and the invitro synthesis of 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)-furanone. Microbiology 2002; 148: 909-922.
17. Milton D, Chalker VJ, Kirke D, Hardman A, Cámara M, Williams P. The LuxM homologue VanM from *Vibrio anguillarum* directs the synthesis of N-(3-Hydroxyhexanoyl) homoserine Lactone and N-Hexanoyl-homoserine Lactone. J Bacteriol 2001; 183: 3537-3547.
18. Gambello MJ, Iglewski BH. Cloning and characterisation of the *Pseudomonas aeruginosa* lasR gene, a transcriptional activator of elastase expression. J Bacteriol 1991; 173: 3000-3009.
19. Pearson JP, Gray KM, Passador L, Williams P, Pritchard DI. Structure of the autoinducer required for expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes. Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91: 197-201.
20. Latifi A, Winson MK, Foglino M, Bycroft BW, Stewart GSAB, Williams P. Multiple homologues of LuxR and LuxI control expression of virulence determinants and secondary metabolites through quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Mol Microbiol 1995; 17: 333-343.
21. Hooi DSW, Bycroft BW, Chhabra SR, et al. Differential immune modulatory

- activity of *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal molecules. Infect Immun 2004; 72: 6463-6470.
22. <http://www.nottingham.ac.uk/quorum/grampositives.htm> (Erişim tarihi: 30 Mayıs 2006).
23. Rasmussen TB, Skindersoe ME, Bjarnsholt T, et al. Identity and effects of quorum-sensing inhibitors produced by *Penicillium* species. Microbiology 2005; 151: 1325-1340.
24. Nodwell JR, Losick R. Purification of an extracellular signalling molecule involved in production of aerial mycelium by *Streptomyces coelicolor*. J Bacteriol 1998; 180: 1334-1337.
25. Hornby JM, Jensen EC, Lisek AD, et al. Quorum sensing in the dimorphic fungus *Candida albicans* is mediated by Farnesol. Appl Environ Microbiol 2001; 67: 2982-2992.
26. Shchepin R, Hornby JM, Burger E, Niessen T, Dussault P, Nickerson KW. Quorum sensing in *Candida albicans*: probing farnesol's mode of action with 40 natural and synthetic farnesol analogs. Chem Biol 2003; 10: 743-750.
27. Shchepin R, Dumitru R, Nickerson KW, Lund M, Dussault PH. Biologically active fluorescent farnesol analogs. Chem Biol 2005; 12: 639-641.
28. Westwater C, Balish E, Schofield DA. *Candida albicans*-conditioned medium protects yeast cells from oxidative stress: a possible link between quorum sensing and oxidative stress resistance. Eukaryot Cell 2005; 4: 1654-1661.
29. Laffey SF, Butler G. Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis*. Microbiology 2005; 151: 1073-1081.
30. Semighini CP, Hornby JM, Dumitru R, Nickerson KW, Haris SD. Farnesol induced apoptosis in *Aspergillus nidulans* reveals a possible mechanism for antagonistic interactions between fungi. Mol Microbiol 2006; 59: 753-764.
31. Hornby JM, Jacobitz-Kizzier SM, McNeel DJ, et al. Inoculum size effect in dimorphic fungi: extracellular control of yeast-mycelium dimorphism in *Ceratomyces ulmi*. Appl Environ Microbiol 2004; 70: 1356-1359.
32. Manfield M, de Nys R, Kumar N, et al. Evidence that halogenated furanones from *Delisea pulchra* inhibit acylated homoserine lactone (AHL) mediated gene expression by displacing the AHL signal from its receptor protein. Microbiology 1999; 145: 283-291.
33. <http://www.nottingham.ac.uk/quorum/fischeri2.htm> (Erişim tarihi: 30 Mayıs 2006).
34. http://plantbio.berkeley.edu/~courses/pmb148/quorum_sensing.htm#genetic%20analysis%20quorum (Erişim tarihi: 30 Mayıs 2006).
35. http://plantbio.berkeley.edu/~courses/pmb148/images/V._harveyi.gif (Erişim tarihi: 30 Mayıs 2006).
36. <http://www.nottingham.ac.uk/quorum/harveyi3.htm> (Erişim tarihi: 30 Mayıs 2006).