

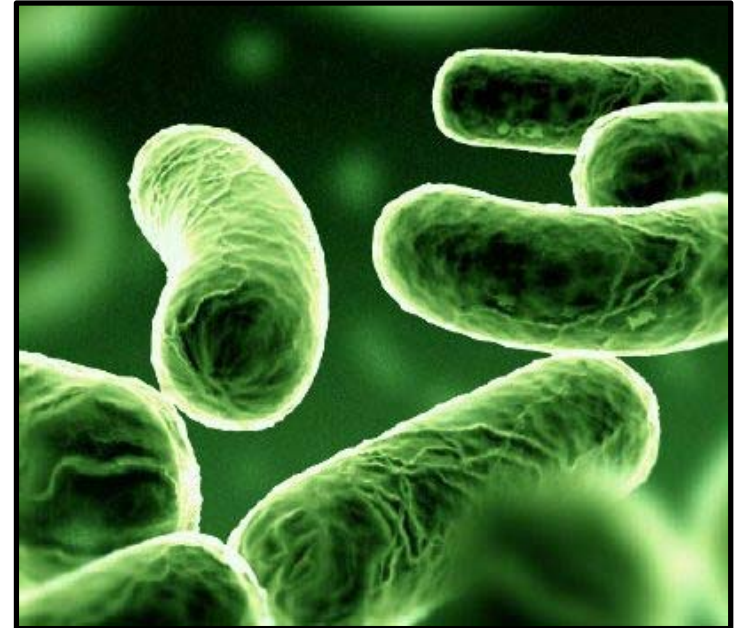
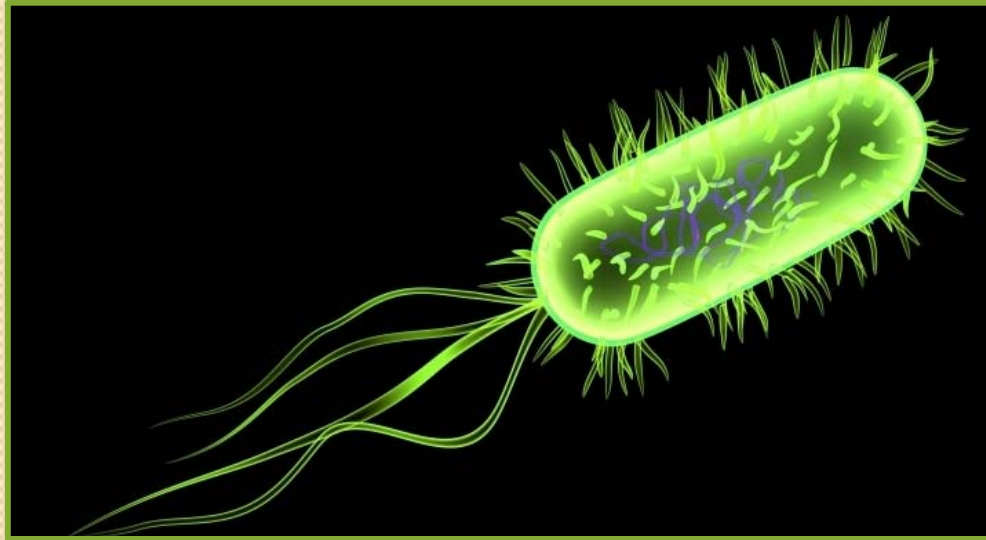


QUORUM SENSİNG (ÇEVREYİ ALGILAMA SİSTEMİ) İNHİBİTÖRLERİ: Bakteriyel enfeksiyonların kontrolü ve tedavisi için umut vaat eden yeni stratejiler

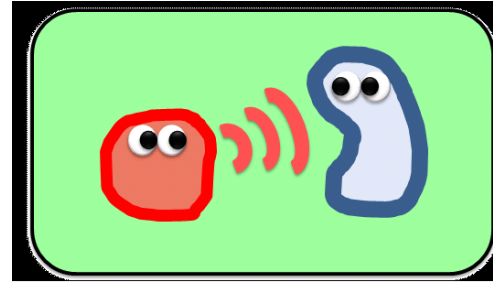
Doç. Dr. Gülgün TINAZ
Marmara Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi
Temel Bilimler Bölümü

Bakteriyel İletişim (Çevreyi Algılama= Quorum Sensing)

Uzun yıllar boyunca, iletişim yeteneğinin çok hücreli “yüksek yapılı” organizmalara özgü bir özellik olduğu, bakteriler gibi tek hücreli canlıların ise sadece büyümek ve bölünmekten ibaret olan son derece basit bir yaşam tarzına sahip varlıklar oldukları düşünülüyordu.

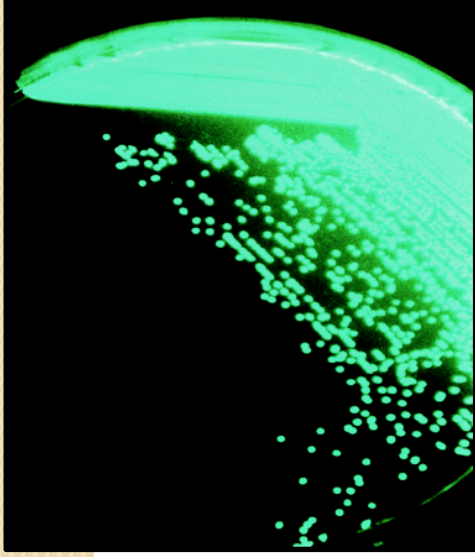


Ancak günümüzde, bakterilerin “asosyal”, “yalnız yaşıyan”,
“yalnız ölen” izole varlıklar olmadıkları, değişen ortam
koşullarına uyumlarını kolaylaştırmak için karmaşık hücreler
arası iletişim sistemleri kullanan topluluklar halinde
buldukları kabul edilmektedir.



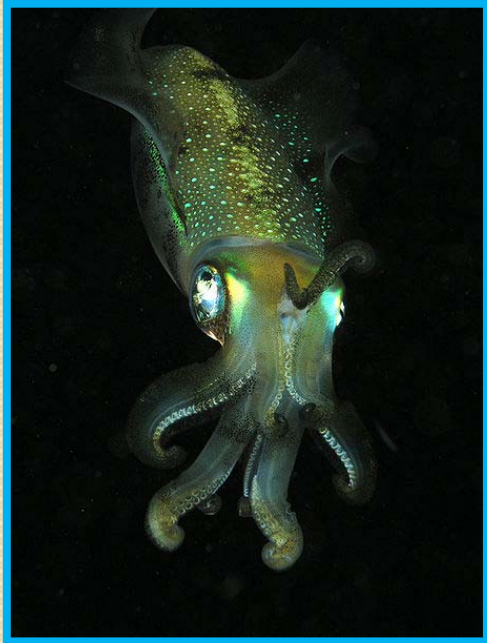
Swift S., Throup J.P., Williams P., Salmond G.P., Stewart G.S., Quorum sensing: a population-density component in the determination of bacterial phenotype, Trends Biochem Sci, 21, 214-219 (1994).

Bakterilerin sosyal bir yaşamları olduğu ilk defa 1970'lerin başında Gram (-) bir deniz bakterisi olan *Vibrio fischeri* üzerinde yapılan çalışmalar sırasında ortaya ıktı.



•Bu bakteride biyolüminesens (biyoışıma)'in kollektif bir çalışma ile oluşturulduğu keşfedildi.

•*Vibrio fischeri*'lerin yalnız olduklarında ışık üretemeyip ancak çoğalıp belli bir sayıya ulaştıklarında, hepsi birden aynı anda ışık üretmeye başlıyorlardı.

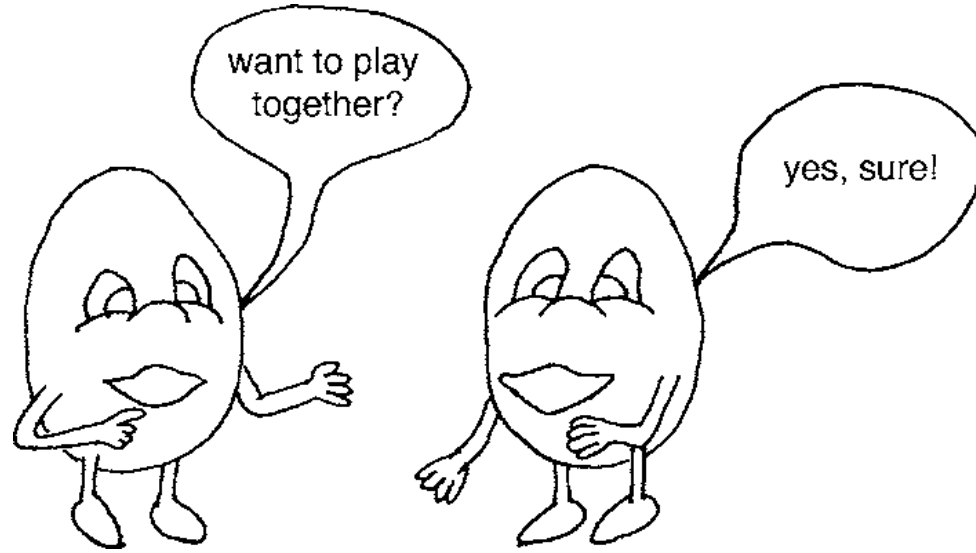




?

- Bu ilkel organizmalar yalnız olduklarını veya topluluk içinde olduklarını nasıl ayırt edebiliyorlar?
- Nasıl bir grup olarak toplu halde davranabiliyorlar?

Çok geçmeden bunu yapabilmelerini sağlayan şeyin birbirleriyle iletişim kurabilme yeteneklerinin olduğu anlaşıldı.



İlk defa *Vibrio fisheri*'de tanımlanmış olan bu bakteriyel iletişim sisteminin daha sonra *V. fisheri* ile sınırlı olmadığı birçok Gram (-) ve Gram (+), insan, hayvan ve bitki patojeni tarafından yaygın olarak kullanıldığı keşfedilmiştir.

Bakterilerin bu sistemi; antibiyotik biyosentezi, konjugasyon, önemli virülens faktörlerinin üretimi ve biyofilm oluşumu gibi çok çeşitli fizyolojik işlemlerde kullandığı bulunmuştur.




Bakteriler birbirleriyle nasıl iletişim kuruyorlar?


- Bakteriler birbirleriyle iletişim kurmak için küçük sinyal molekülleri kullanıyorlar.

Bakteriler birbirleriyle haberleşme amacıyla 3 tip sinyal molekülü kullanıyor.....

1. Acyl-homoserine lactones (AHLs) → Gram (-)
2. Autoinducer peptides (AIPs) → Gram (+)
3. Autoinducer-2 (AI-2) → Gram (-), Gram (+)

Bakteriler bu sinyal molekülleri aracılığıyla yeterli çoğunluğa ulaşıp ulaşmadıklarını izlemekte ve yeter çoğunluğa ulaştıkları anda da virülens faktörlerinin üretimi gibi kritik gen ekspresyonları tetiklenmektedir.

- 
- Hücresler arası iletişimi sağlayan bu haberleşme sistemi çevreyi algılama (quorum sensing) olarak adlandırılır.
 - Bu olay bakteriye kendi hücre populasyon yoğunluğunu izleme ve buna bağlı olarak davranışlarını düzenlenme olanağı verir.



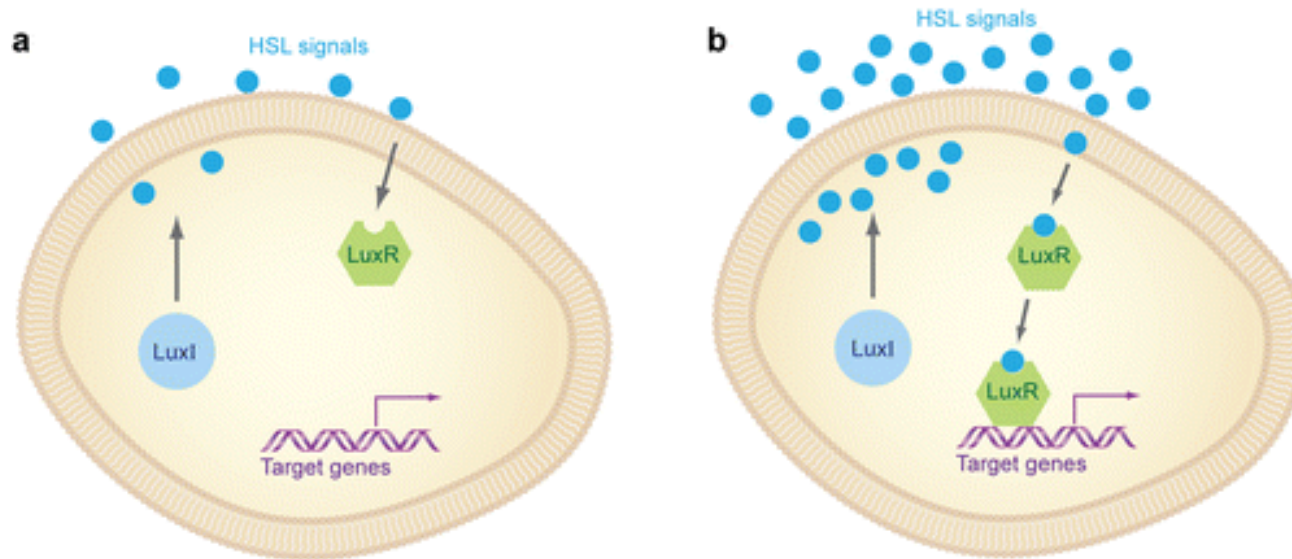
Böylelikle, konakta enfeksiyon oluşturabilecek yeterli çoğunluğa ulaşıncaya kadar bağışıklık sistemi tarafından patojen bakterinin fark edilmemesi sağlanarak başarılı bir enfeksiyon süreci oluşturulur.

Gram (-) bakterilerde Quorum Sensing

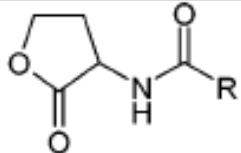
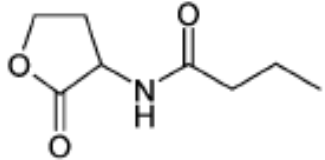
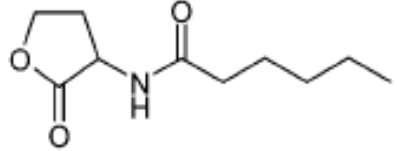
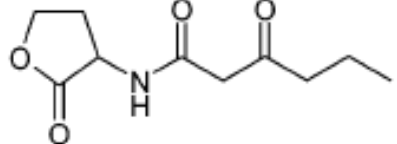
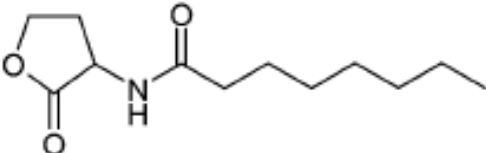
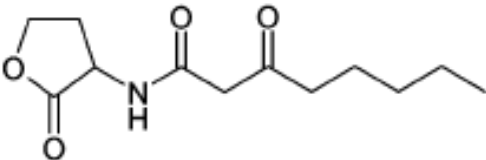
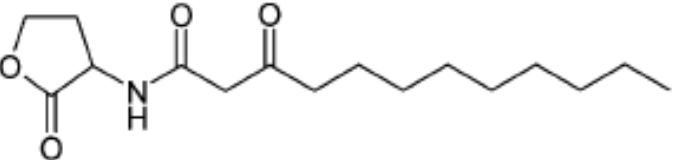
- Gram negatif bakteriler patojeniteye katkıda bulunan bir seri virülens faktörü üretirler.
- Bu virülens faktörlerini üretmek için *N*-açil homoserine laktone (AHL) türevi sinyal moleküllerini kullanıyorlar

- Bakteriler tarafından sentezlenen bu küçük sinyal molekülleri, bakteri hücrelerinden difüze olur ve bakteri sayısındaki artışa paralel olarak ortamda birikmeye başlar.

- Hücre yoğunluğu eşik değere ulaştığında, ortamda birikmiş olan moleküller reseptör proteine bağlanarak hedef genlerin ekspresyonları tetiklenir.



Gram (-) bakterilerin sinyal molekülleri

	Structure	Microorganism
N-acyl-homoserine lactone (AHL)		
N-butyryl-homoserine lactone (C4-HSL)		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (RhII)
N-hexanoyl-homoserine lactone (C6-HSL)		<i>Chromobacterium violaceum</i> (CvII)
N-3-oxo-hexanoyl-homoserine lactone (3-oxo-C6-HSL)		<i>Vibrio fischeri</i> (LuxI)
N-octanoyl-homoserine lactone (C8-HSL)		<i>Burkholderia cepacia</i> (Cepl)
N-3-oxo-octanoyl-homoserine lactone (3-oxo-C8-HSL)		<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (TraI)
N-3-oxo-dodecanoyl-homoserine lactone (3-oxo-C12-HSL)		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (LasI)

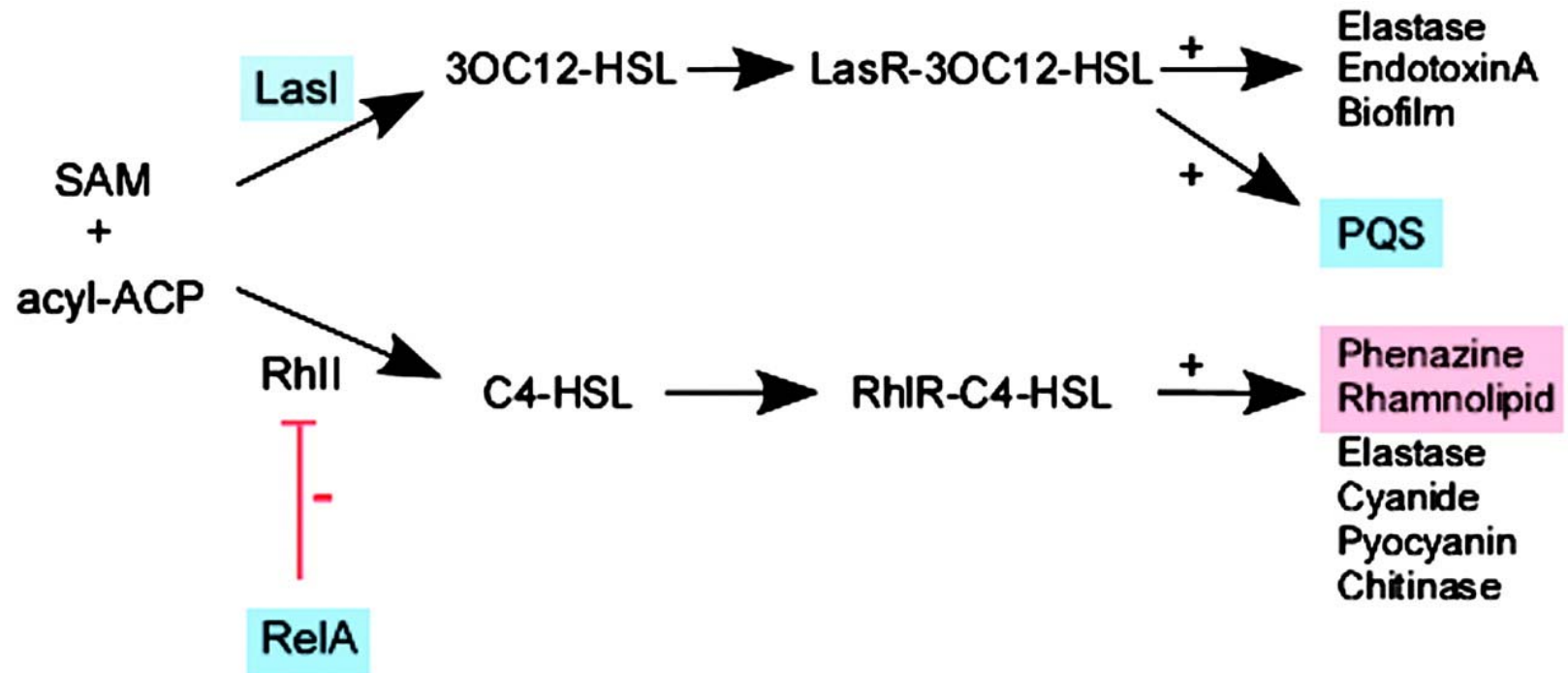
QS signals	Bacteria	Signal synthase	Process controlled by QS	Reference
N-acyl homoserine lactones				
3-oxo-C6-HSL	<i>Vibrio fischeri</i>	LuxI	Light production	(Nealson et al. 1970 ; Eberhard et al. 1981)
3-oxo-C10-HSL	<i>Vibrio anguillarum</i>	VanI	Virulence	(Defoirdt et al. 2004)
3OH-C4-HSL	<i>Vibrio harveyi</i>	LuxM	Bioluminescence, biofilm production	(Waters and Bassler 2005)
C4-HSL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	RhlI	Biofilm maturation, adhesion	(Waters and Bassler 2005)
3-oxo-C12-HSL	<i>P. aeruginosa</i>	LasI	Virulence production	(Pearson et al. 1994)
3-oxo-C8-HSL	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Tral	Conjugal transfer of the virulence plasmid	(Cha et al. 1998 ; Fuqua et al. 2001)
C4-HSL C6-HSL	<i>Aeromonas hydrophyla</i> , <i>A. salmonicida</i>	Ahyl Asal	Biofilm formation, enzyme production	(Swift et al. 1999)
C6-HSL	<i>Chromobacterium violaceum</i>	CvI	Violacein, antibiotics and enzyme production	(Cha et al. 1998)
C4-HSL	<i>Serratia marcescens</i>	SwrI	Swarming	(Miller and Bassler 2001)
C6-HSL Oxo-C6-HSL C8-HSL	<i>Yersinia enterocolytica</i> , <i>Y. pseudotuberculosis</i>	YenI YpsI	Motility Aggregation	(Miller and Bassler 2001)

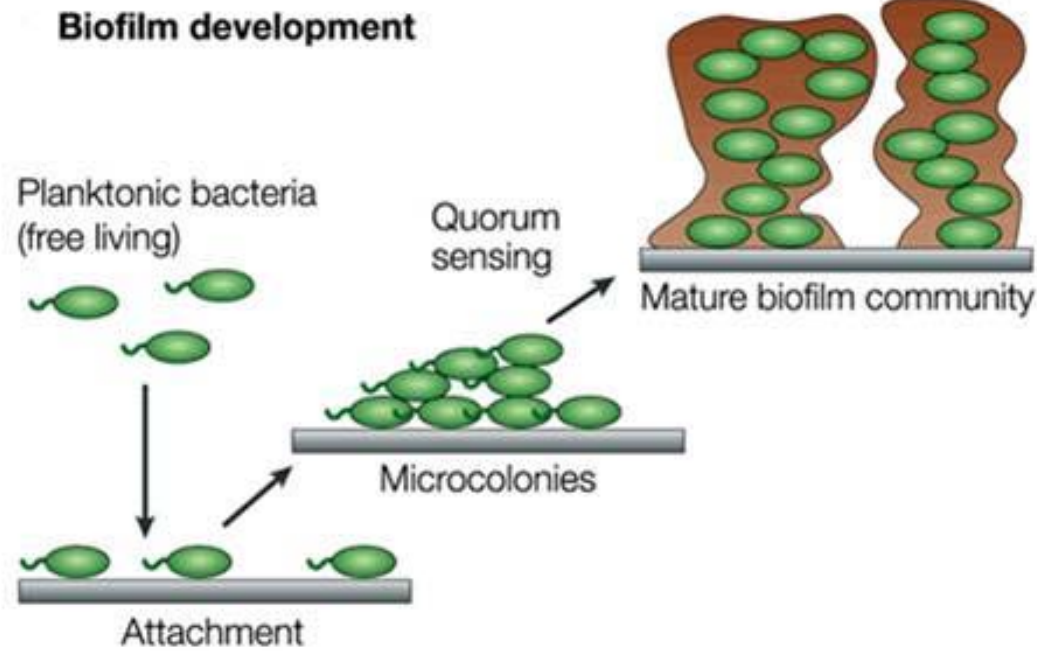


Pseudomonas aeruginosa QS sistemi

- *P. aeruginosa*; kanser, AIDS veya kistik fibrozili hastalarda ayrıca immün sistemi baskılanmış hastalarda enfeksiyona sebep olan, fırsatçı bir insan patojenidir.
- kataterler, kalp kapakları ve diş protezleri gibi vücut içi tıbbi cihazlarda da biyofilm oluşturarak kolonize olur.
- *P. aeruginosa*'nın başarılı bir fırsatçı patojen olmasının nedenlerinden birisi, oldukça geniş yelpazede ürettiği virülens faktörleridir. Bu virülens faktörleri arasında elastaz, alkalın proteaz, hemolizin, siyanid, piyosiyanin ve ekzotoksin A sayılabilir.

P. aeruginosa QS sistemi

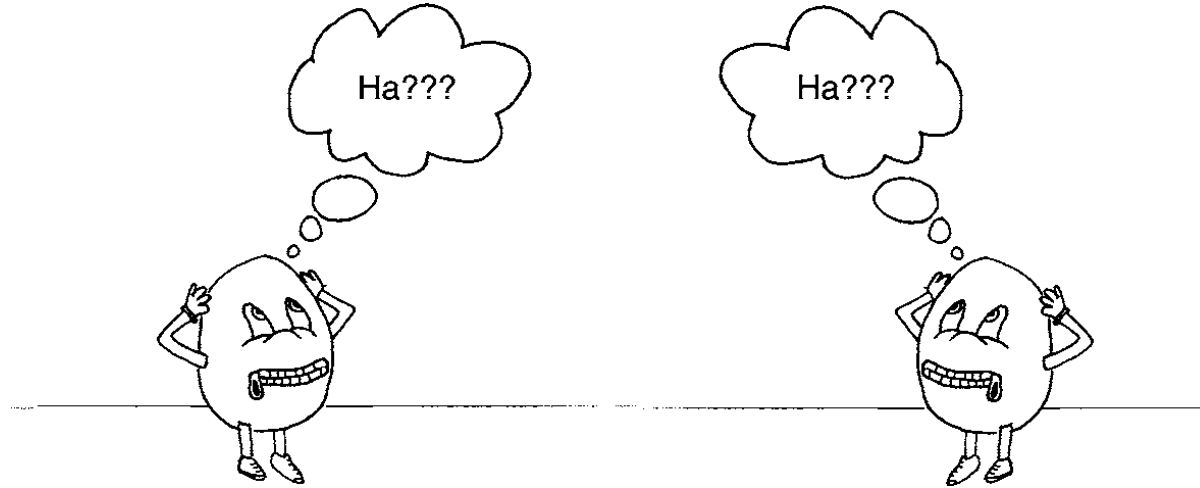




- Biyofilm, bakteriyi bağıışıklık sisteminden koruyan bir yapı....
 - Biyofilm içindeki bakteri planktonik bakteriye göre antibiyotiklere 1000 kat daha dirençli!!!!

Patojenik bakterilerin birçoğunun virülens faktörlerinin üretimini AHL türevi sinyal molekülleri aracılığı ile kontrol ettiğinin keşfedilmesi ile Quorum sensing (çevreyi algılama) sistemi antimikrobiyal tedavi için yeni ve cazip bir hedef haline almıştır.

Son zamanlarda yapılan araştırmalar, bakteriler arası iletişim sisteminin bozulması durumunda bakterilerin koordineli davranamayacakları, konakta kolonize olma yeteneklerinin azalacağı ve bunun sonucunda başarılı bir enfeksiyon süreci ortaya koyamayacaklarını göstermektedir

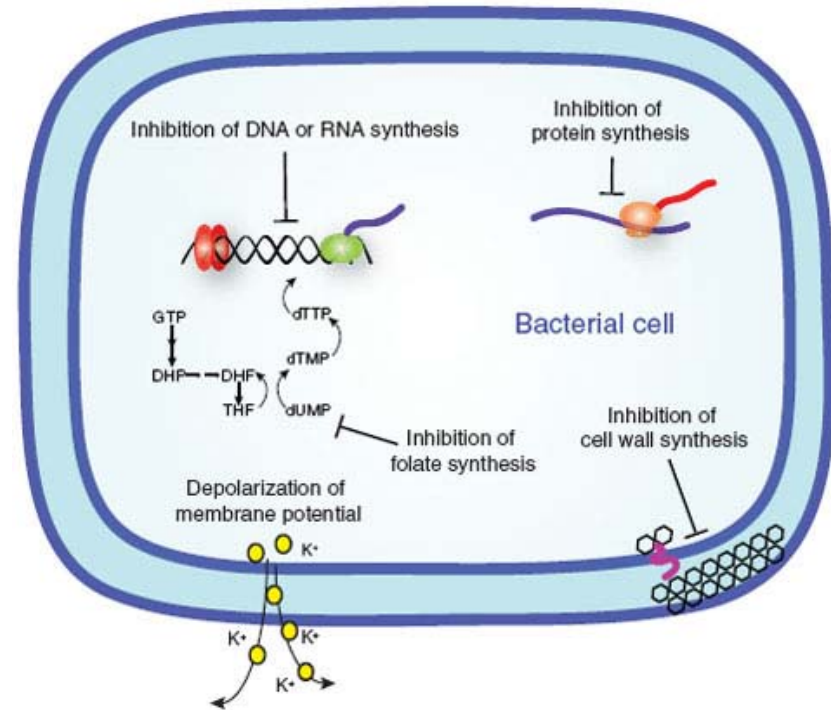


Rasko D, Sperandio V, Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease, Nature Reviews Drug Discovery, 9, 117-128, (2010).

Günümüzde bakteriyel enfeksiyonlar ile savaş için tercih edilen antibiyotik kullanımı gibi klasik yöntemler;

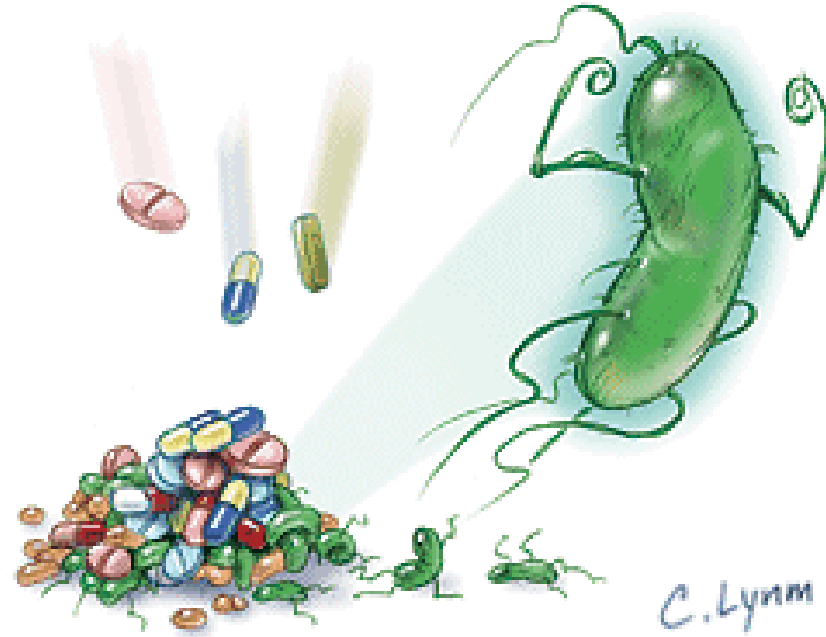
- protein sentezi,
- DNA replikasyonu ve
- hücre duvarı sentezi gibi

bakteriler için önemli işlemleri engelleyerek onları öldürerek yok etme temeline dayanmaktadır.



Ancak bu yöntemler bir süre sonra antibiyotiklere karşı dirençli popülasyonların ortaya çıkmasına, bu da, kullanılan antibiyotiklerin giderek etkisiz kalması, dolayısıyla hastalıkların tam anlamıyla tedavi edilememesi, direncin yayılması ve ekonomik kayıplar ile sonuçlanmaktadır.

- Kullanıma girdikten sadece 2 yıl sonra, 1942 yılında Penisilin direnci gelişti
- Günümüzde bakterilerin çoğu antibiyotiklere dirençli (hastalık yapan bakterilerin % 70'in den fazlası klinikte kullanılan mevcut antibiyotiklerden en az birine karşı dirençli).



Dolayısıyla bakterileri direk öldürmek yerine aralarındaki haberleşme sistemini bloke ederek bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek ve kontrol altında tutmak, patojenlerle savaşta çok umut vaat eden yeni bir strateji olarak düşünülmektedir.

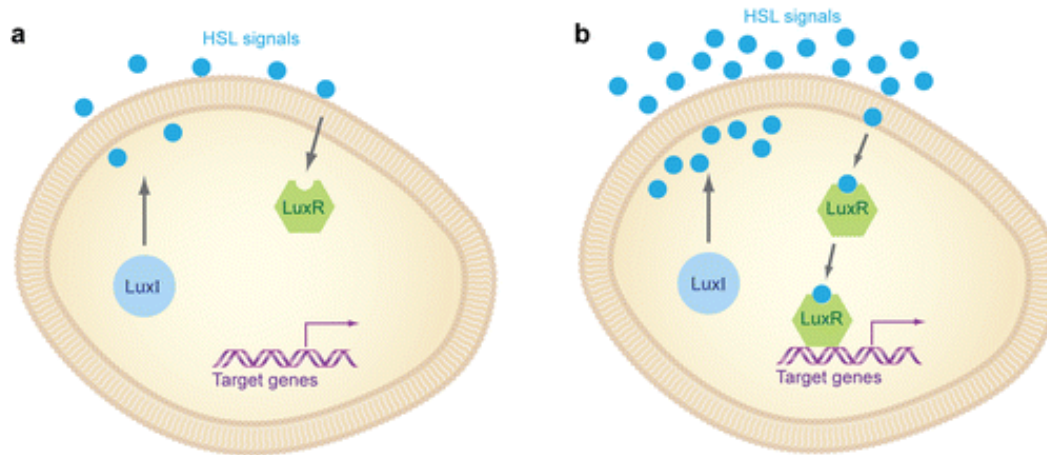


Quorum sensing inhibisyonu için kullanılan stratejiler

Sinyal molekülünün (AHL autoinducer) üretiminin önlenmesi

Sinyal molekülünün yıkılması (AHL sinyal molekülünün hidrolizi)

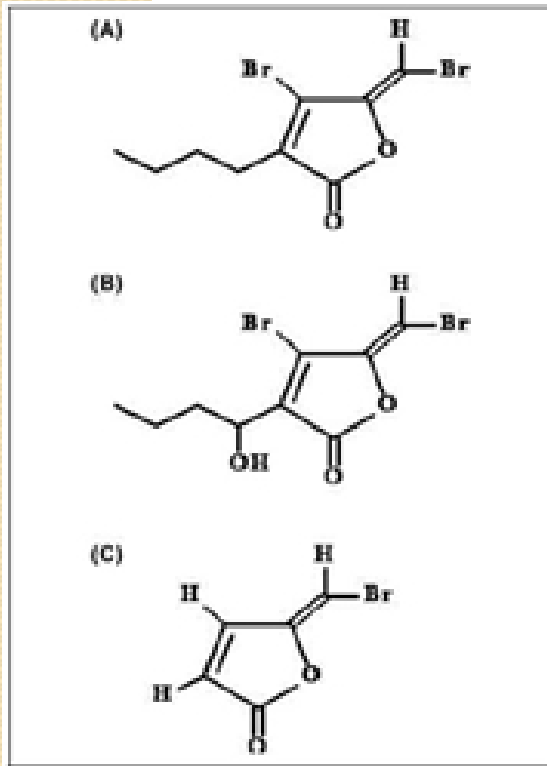
Sinyalinin alınmasının önlenmesi (LuxR-Tipi reseptör proteine bağlanacak analogların geliştirilmesi)

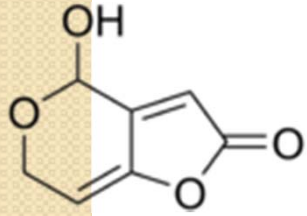


- 
- 1- Doğal İnhibitörler
 - 2- Sentetik Analoglar
 - 3- Bazı İlaçlar

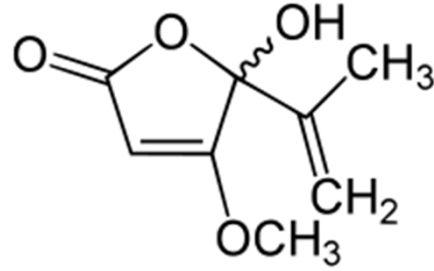
I- Doğal İnhibitörler

Gram-negatif bakterilerde çevreyi algılama sistemini bloke ettiği tespit edilen ilk bileşik, kırmızı bir deniz algi olan *Delisea pulchra*'dan izole edilen halojenlenmiş furanonlardır.

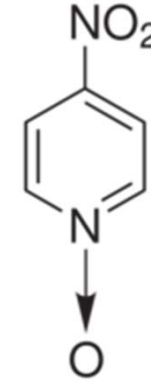




Patulin



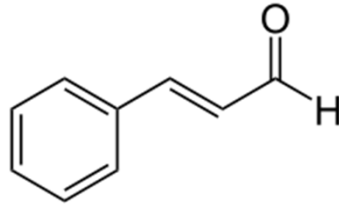
Penicillic asit



4-nitro-pyridine-*N*-oxide (4-NPO)



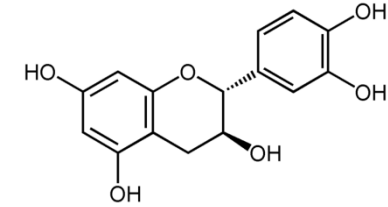
sarımsak özütü



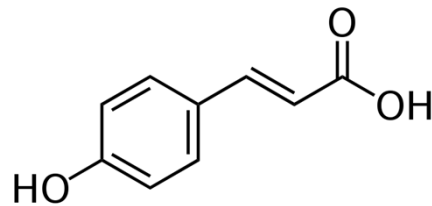
cinnamaldehyde



vanillin




catechin



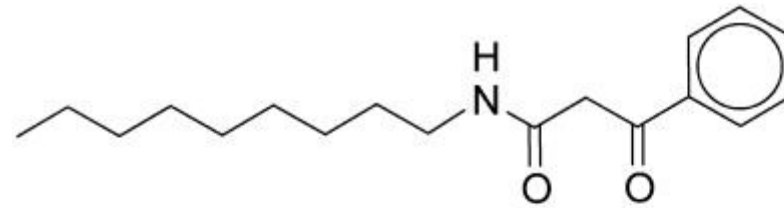
p-coumaric acid

- gibi birkaç doğal bileşiğin daha Gram-negatif bakterilerin çevreyi algılama sistemini etkilediğini rapor edilmiştir.

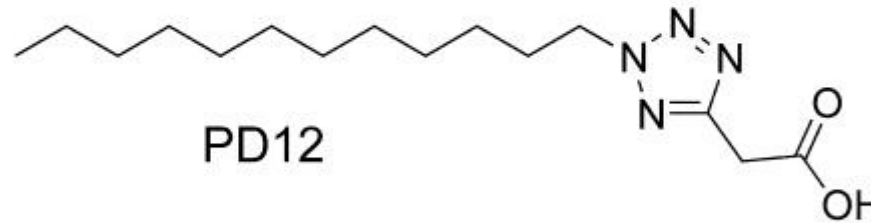
- 
- Ancak bu bileşiklerin çoğunun ya toksik olmaları ya da tolere edilebilir dozlarda etki gösterememeleri nedeniyle insan kullanımına çok uygun olmadıkları görülmüştür.

2- Sentetik Analoglar ve Sentetik Bileşikler

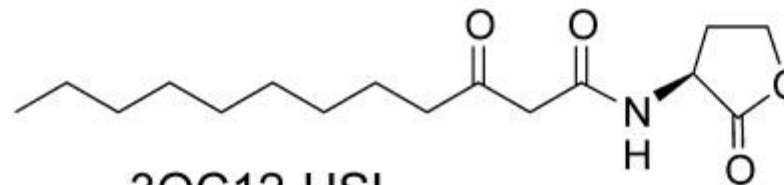
Hücreler arası iletişimi sağlayan sinyalin alınmasını önlemek amacıyla reseptöre (LuxR-tipi) karşı yarışan sentetik moleküller



V-06-018



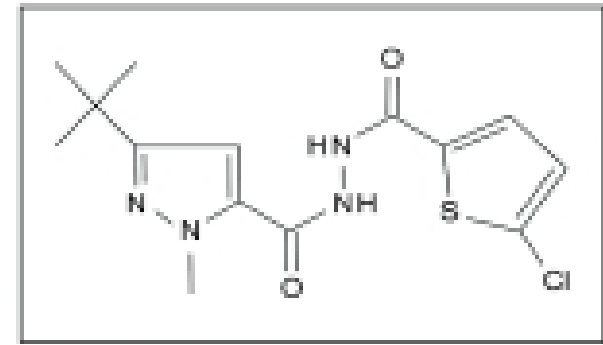
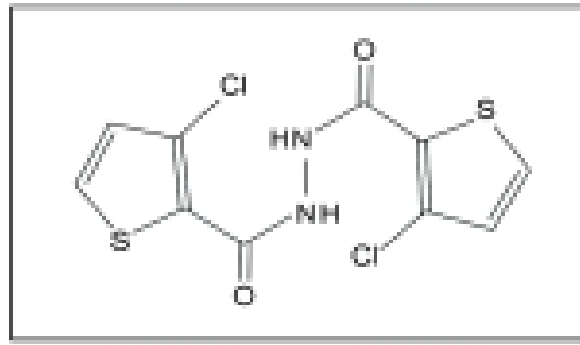
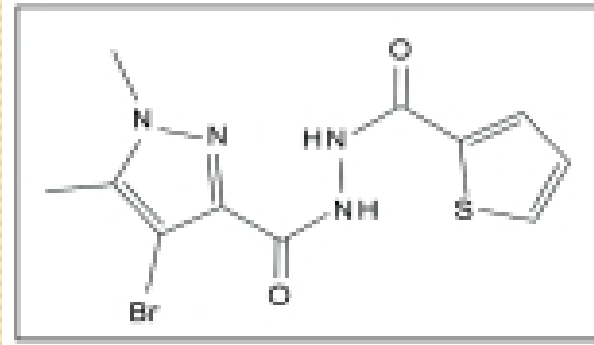
PD12



3OC12-HSL

P. aeruginosa sinyal molekülü

Bilgisayar destekli molekül dizaynı ile QSI molekül taraması çalışmaları ile yapısal olarak AHL' lara benzerlik göstermeyen bazı moleküllerin de bazı bakteri türlerinde QS sistemini inhibe ettiği görülmüştür.



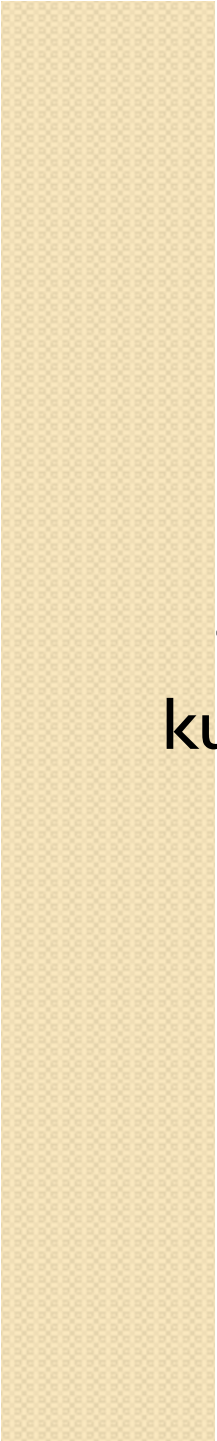
3- Bazı Bilinen İlaçlar

- İlaç pazarındaki bazı ilaçların kullanımlarına neden olan biyolojik etkilerine ilave olarak quorum sensing aktivitesine de sahip oldukları gösterilmiştir.
- Bazı makrolid ve non-makrolid antibiyotiklerin sub-MIC değerlerinde, Gram (-) bakterilerin quorum sensing sistemi üzerine etkileri rapor edilmiştir.
- Salicylic acid, nifuroxazide ve chlorzoxazone'un *P. aeruginosa* quorum sensing sistemini inhibe ettiği görülmüştür.

- Tobramycinin , *P. aeruginosa* da elastaz üretimini azalttığı gözlenmiştir.
- Bilinen ilaç moleküllerinin bakteriyel QS üzerindeki etkileri onların farklı medikal uygulamalarda kullanılma potansiyelleri olduğunu göstermektedir

Eğer insan kullanımına uygun QS inhibitörler geliştirilebilirse, bu moleküllerin antibiyotiklerden farkı ne olacak?

- Üremeyi direk olarak etkilemeyeceklerinden, dirençli bakterilerin gelişimine neden olmayacakları,
- konakta mevcut faydalı bakteri komünitelerini yok etmeyecekleri umulmaktadır.

- 
- QS inhibitörlerinin mevcut antibiyotiklerle birlikte kullanılarak onların etkisini artıracakları ve raf ömrünü uzatacağı umulmaktadır.

Transition state analogs of 5'-methylthioadenosine nucleosidase disrupt quorum sensing

Department of Biochemistry, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York, USA.

Nature Chemical Biology **5**, 251 - 257 (2009)

Amerikalı bilim adamları, bakterilerin direnç geliştiremediği süper antibiyotik üretmeyi başardı.

Nature Chemical Biology dergisinde yayımlanan makaleye göre, New York'taki Albert Einstein Tıp Fakültesinde görevli bilim adamı Vern Schramm ve ekibi, yeni geliştirdikleri antibiyotiği kolera ve *E.coli* bakterilerinde denedi. Bilim adamları, bu antibiyotikle yapılan 26. tedavinin bile, ilk tedavideki gibi sonuç verdiğine dikkati çekti.

Yeni antibiyotiğin bakteriyi öldürmediğini belirten bilim adamları, bu yöntemin bakterilerin direnç geliştirmesine neden olduğunu hatırlattı.

Süper antibiyotik, bakterilerin birbirleriyle iletişimini bir enzimi bloke ederek kesiyor ve böylece bakteriler bağışıklık sisteminden korundukları biyofilmler geliştiremiyor.

Inhibition of Quorum Sensing–Regulated Behaviors by *Scorzonera sandrasica*

Gulgun Bosgelmez-Tinaz,¹ Seyhan Ulusoy,¹ Aysel Ugur,² Ozgur Ceylan²

¹Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Suleyman Demirel University, 32260, Isparta, Turkey

²Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Mugla University, 48187, Kotekli-Mugla, Turkey

Received: 5 December 2006 / Accepted: 11 January 2007

Abstract. Many Gram-negative bacteria use *N*-acyl homoserine lactone signal molecules to monitor their own population density and coordinate gene regulation in a process called quorum sensing (QS). Increasing evidence implies that certain eukaryotes produce QS-inhibitory compounds. In this work, we tested 46 terrestrial plants materials for their ability to inhibit QS-regulated behaviors in different bacterial species. Plant materials were dried and extracted using different solvents. The chloroform-soluble compounds extracted from *Scorzonera sandrasica* were found to inhibit violacein production, a QS-regulated behavior in *Chromobacterium violaceum*. In addition, the chloroform extract was also able to inhibit QS-regulated carbapenem antibiotic production in *Erwinia carotovora*. Because the regulation of many bacterial processes is controlled by QS systems, the finding of natural compounds acting as QS inhibitors suggests an attractive tool to control and handle detrimental infections caused by human, animal, and plant pathogens.

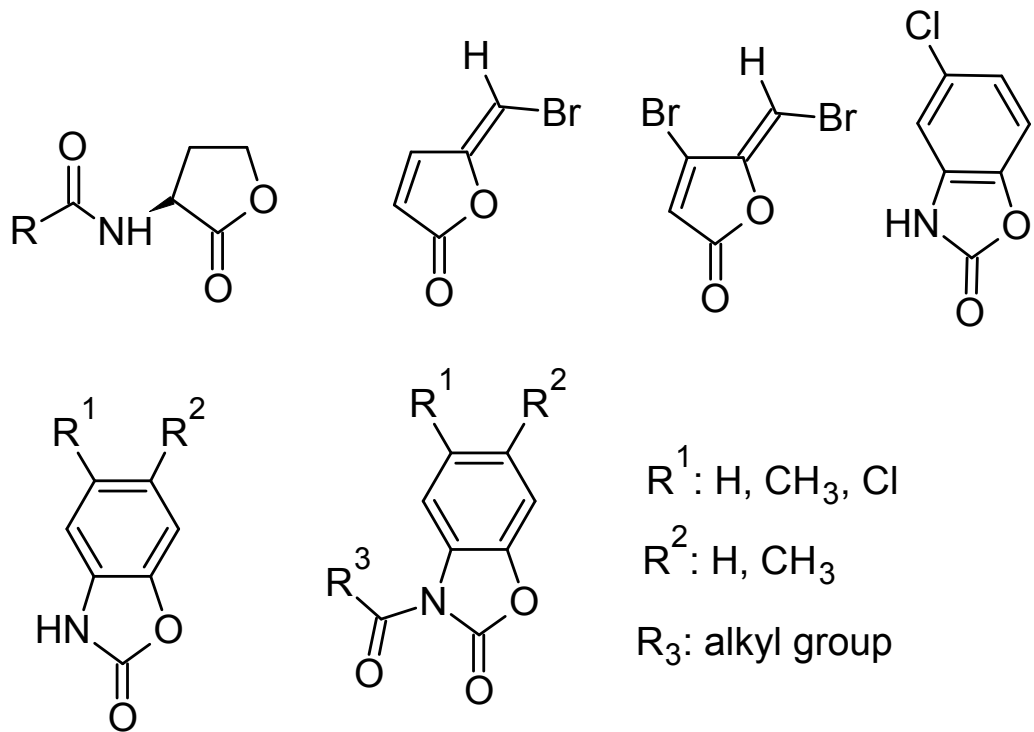
SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF SOME 2(3H)-BENZOXAZOLONE DERIVATIVES AS ANTI-QUORUM SENSING AGENTS

Anooshirvan M. Miandjia, Yasemin Dündera*, Seyhan Ulusoy^b, Selda Özgen^c, Fatma Kaynak Onurdağ^c, Ufuk Abbasoğlu^c, Gülgün Boşgelmez-Tınaz^d, Ningur Noyanalpan^a

^a *Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Gazi University, 06330, Ankara, Turkey*

^b *Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Suleyman Demirel University, 32260, Isparta, Turkey*

^c *Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, Gazi University, 06330, Ankara, Turkey* ^d *Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Marmara University, 34668, İstanbul, Turkey*



General structure of AHL, synthetic furanone derivatives, chlorzoxazon and synthesized compounds.