

MANTARLARDA "QUORUM SENSING" MOLEKÜLLERİ VE BİYOFİLMLER

Aydan ÖZKÜTÜK

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, (aydan.ozkutuk@deu.edu.tr)

Mikro-organizmaların konağa yerleşmesi ve infeksiyon oluşturmada bir çok faktör etkili olmaktadır. Çevre koşullarının mikro-organizma için uygunluğunun belirlenmesinde mikro-organizmaların birbirleri ile iletişim kurmaları önemlidir. Bu konuda ilk çalışmalar bakteriler üzerinde gerçekleştirilmiş olduğundan konunun tarihsel gelişim sürecini açıklamada öncelikle bakteriler üzerinde yapılan çalışmalara değinilecektir.

Bakterilerin birbirleri ile iletişime girdikleri ilk olarak Fuqua ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. *Vibrio harveyi* ve *Vibrio fischeri* normalde deniz suyunun mililitresinde 100'den az sayıda bulunan ve ışım yapmayan iki deniz bakterisidir. Ancak bakteriler bazı deniz balıklarının ışık organellerinde yerleştiğinde ve yüksek yoğunluğa ulaştıklarında çevreye ışık saçabilmektedirler. Bakterilerin, bu özelliği ortama salgıladıkları bazı moleküllerin ortamdaki yüksek yoğunluğunu hissederek kazandıkları öne sürülmektedir (1). Bu sonuçlardan yola çıkılarak, bakterilerin bazı moleküller yardımı ile ortamdaki bakteri yoğunluğunu hissetmesine "quorum sensing" (QS) denilmektedir (2, 3).

Mikrobiyal kültür süspansiyonlarından elde edilen sinyal moleküllerine, üretildikleri hücrenin metabolizmasını düzenlemeleri nedeni ile "autoinducer" da denilmektedir. Sinyal molekülleri ile mikro-organizma genetik düzenlemeler yapar, çevreye adaptasyon sağlar ve virulansını kontrol etmeyi başarır. Böylece birçok mikro-organizma konakta uygun bir bölgede etkili bir çoğunluk oluşturuncaya kadar saptanmasını geciktirebilmekte, konak yanıtından kaçabilmektedir (4, 5). Öte yandan QS düzenleyici yolları; grup motilitesi, çok hücreli yapıların oluşturulması, biyofilmlerin kontrol altına alınması gibi hücre-hücre etkileşiminde de rol oynamaktadır (6, 7).

Quorum sensing molekülleri Gram-negatif bakterilerde açıl homoserin lakton (AHL), Gram-pozitif bakterilerde küçük peptitler ve her iki grupta bulunabilen "autoinducer-2" (AI-2) olarak adlandırılan çeşitli gruplardan oluşmaktadır. Moleküller hücrenin dışına salgılanarak burada birikirler. Sinyal molekülleri pasif difüzyon, atım pompaları ya da özgün taşıyıcılar aracılığı ile zardan geçiş göstermektedir. Yeterli miktarda sinyal biriktiğinde ilgili genlerin ekspresyonu uyarılmakta ve bazı ürünler ortaya çıkmaktadır (4, 8).

Quorum sensing moleküllerini hücrenel metabolitlerden ayıran temel özellikler; QS molekülünün özel bazı koşullar altında salınması, hücre dışında birikmesi ve özgün reseptörlerle tanınması, molekül miktarı belli bir eşiği aştığında planlanmış bir yanıtın ortaya çıkması ve bu yanıtın QS molekülünün metabolize ya da detoksifiye edilmesinden çok daha geniş olmasıdır (9).

Bazı QS molekülleri bir tür ya da suşa özgü iken bazı moleküller birden fazla bakteriden salınabilmekte, hatta aynı QS molekülünü kullandıkları için iki bakteri birbirlerinin virulans faktörlerinin sentezine yardımcı olabilmektedirler (10).

Son yıllarda bakteriler gibi mantarlarda da QS düzenlemelerinin bulunduğu ve biyofilm oluşumu, patogeneze gibi mantarların topluluk temelli davranışlarını etkilediği bildirilmektedir. Bu konuda en yoğun çalışmalar *Candida albicans* üzerindedir (4).

Candida albicans QS sistemine sahip olan önemli bir fırsatçı patojen, dimorfik mantardır. Hastalık oluşturmasında tomurcuklanmış maya ile polarize bir filaman haline dönüşüm süreci önemlidir. Durağan fazdaki *C. albicans* kültür süspansiyonlarında hücre yoğunluğu arttığında, hifal formun suda erir bir faktör aracılığı ile baskılandığı ve bu baskılanmanın *Candida tropicalis* süspansiyonlarında da olduğu, ancak diğer türlerde gözlenmediği gösterilmiştir (11).

1969'da Lingappa ve ark. (12) *C. albicans*'ın sıvı Sabouraud besiyerindeki yedi günlük kültürlerinden yaptıkları çalışmada iki ürünün *C. albicans*'ın üremesini inhibe ettiğini gösterdiler: Fenil etil alkol ve triptofol. Bu moleküller 160 ve 250 µM konsantrasyonda *C. albicans*'ın üremesini inhibe etseler de Hazen ve ark. (11)'nin çalışmasında bu moleküllerin çimlenme borusunun inhibisyonu için gerekli olmadığı gösterildi. Aynı araştırmacılar "morphogenic autoregulatory substance" (MARS) adı verilen bir molekülün *C. albicans*'ın doku kültürlerinde yoğun olarak bulunduğunu ve çimlenmeyen hücrelerin üremesini etkilemezken çimlenme olan hücrelerde çimlenmeyi baskıladığını, ayrıca kobalt, kalsiyum, nikel gibi iyonların bu bileşiğin etkisini yönlendirmediği etkili olduklarını gösterdiler (4).

2001 yılında iki bağımsız araştırmacı grup, hif gelişimini baskılayan *C. albicans* süpernatantlarında bulunan bir molekülü tanımladılar: "farnesol" (13, 14).

Farnesol 1-50 µM konsantrasyonda *C. albicans* suşlarına etki gösteren, besiyerinde bulunan sığır serum albumini ya da prolin N-asetil glukozamin gibi hif oluşumunu tetikleyen maddelerin varlığına rağmen miçel oluşumunu baskılayabilen bir sinyal molekülüdür. Ancak hif oluşumunu baskılayabilmek için yüksek konsantrasyonlara (10-250 µM) ihtiyaç duyulmaktadır (15). Ayrıca hif oluşumunu baskılayanın yanında hücreyi hidrojen peroksitine karşı da korumaktadır (4). Farnesolün kazandırdığı bu özellikler mantarın konak savunmasından kaçışı için iyi bir yol gibi gözükmektedir.

Bazı suşların, örneğin, *C. albicans* ATCC 10231 gibi farnesol yerine farnesoik asit molekülü içerdiği gösterilmiştir. Farnesol, farnesoik asite göre daha düşük konsantrasyonlarda hif oluşumunu inhibe edebilmektedir (4).

Farnesol, sterol biyosentezinde ara basamak olan farnesil pirofosfattan oluşmaktadır. Hornby ve ark. (16), *C. albicans* ekstraktlarının farnesil pirofosfattan farnesol üreten bir enzime sahip olduklarını ve farnesol üretiminin ergosterol biyosentezinde rol oynayan zaragozik asit-B aracılı squalen sentaz enziminin inhibisyonu ile arttığını gösterdiler. Ergosterol sentezindeki problem durumunda farnesol miktarının artışı belki de benzer mekanizma ile azol ilaçların kullanımında ortaya çıkmaktadır. Azollerin ergosterol sentezini bozması sonucunda belki de farnesil pirofosfat öncüllerinin birikmesi nedeni ile farnesol miktarında artış olmaktadır (17).

Farnesol oluşumu ile ilgili bir diğer özellik anaerobik koşullarda farnesol üretiminin olmayışıdır. Anaerobik koşullarda *C. albicans* suşlarının ergosterol hedefli antifungallere duyarsız olduğu bilinmektedir. Bu koşullarda ergosterol sentezi ile ilgili aktivitelerde değişiklik ya da azalma olması, sonuçta farnesol oluşumunda da yetersizliğe yol açmaktadır (18). İlginç olarak, anoksik koşullarda hif formasyonu dışardan farnesol eklense de baskılanmamaktadır.

Farnesol deriveleri sitoplazmik ve nükleer membranda yerleşiktir. Membranda bulunan sinyal yollarında görevli histidin kinaz Chk1'in farnesol sinyal mekanizmasında da etkili

olabileceği düşünölmüş ve *C. albicans* Chk1 histidin kinaz defektif mutant suşların farnesol varlığına rağmen biyofilm oluşturabildiği gösterilmiştir (19). Bu durumda Chk1 histidin kinaz farnesolün etki gösterme sürecinde görevli bir molekül olduğu ve hücre membranı ile ilgili aktivitelerin farnesolün etkisini etkileyebileceği düşünölebilir. *Candida albicans* suşlarında biyofilm oluşumunun oldukça karmaşık bir süreç olduğu ve bir çok sinyal yanıtlarının düzenlemesine ihtiyaç duyulduğu hiç şüphesizdir (20). Quorum sensing moleküllerinin bu süreçteki görevleri sadece biyofilmin yayılımı aşamasında mıdır, sorusu hala önemini korumaktadır. Bu sorulara yanıt verecek *in vitro* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Günümüzde farnesol ile ilgili mekanizmaların açıklanması için çalışmalar devam etmekte, *C. albicans* suşlarının birden fazla QS molekülüne sahip olabileceği düşünölmektedir. *Vibrio harveyi*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi çeşitli bakterilerin birçok hücre dışı sinyal molekülleri oluşturduğu düşünölrse benzer durum *C. albicans* için de geçerli olabilir.

Candida albicans'ın ürettiği ikinci QS molekülü bir tirozin derivesi olan "thyrosol" dür (21). "Thyrosol" farnesolün aksine hif oluşumunu arttırmaktadır. Böylece *C. albicans* farnesol ve "thyrosol" yardımı ile morfogenezini kontrol altında tutabilmektedir. *Saccharomyces cerevisiae*'de tanımlanmış iki QS molekülü fenil etanol ve triptofol *C. albicans* tarafından da üretilmekte ve "thyrosol" etki göstermediğinde yalancı hif oluşumunu arttırmaktadır (12, 22).

Biyofilm oluşumu

Biyofilm, ekzopolisakkarit matriks içine gömölü, birbirine ve bir yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunmuş mikro-organizma topluluğu olup gen ekspresyon paternlerinde değişim, strese ve çevre koşullarına karşı direnç artışı ve bazı durumlarda hücrel farklılaşmada etkili olan bir yapıdır (23).

Biyofilm gelişimi ile QS sistemleri arasındaki ilişki birçok bakteri arasında gösterilmiştir (*P. aeruginosa* ile *Burkholderia cepacia* arasında olduğu gibi). Mutant *P. aeruginosa* suşlarında açıl homoserin lakton (AHL) sinyallerinin zayıf olduğu ve bu suşların oluşturduğu biyofilmlerin de ince olduğu gösterilmiştir (10, 24).

Biyofilm oluşum sürecinde QS molekülleri adezyonda, mikrokolonilerin oluşumunda ve sonrasında biyofilm içinde kanalcıklar açmak suretiyle biyofilmden kopan mikro-organizmaların bir başka yere gidip tutunmasında görev almaktadırlar (25). Quorum sensing sistemi defektli mutant suşlarda oluşan biyofilmler gevşek olmakta, hidrojen peroksit ve nötrofillere daha duyarlı hale gelmektedirler (26).

Mantarlarda biyofilm oluşumu sürecinde QS sisteminin rolünü araştırmaya yönelik çalışmalar en fazla *C. albicans* suşları üzerindedir. *Candida albicans* suşlarının oluşturdukları biyofilmin yapısı ve kompozisyonu çeşitli çevresel koşullara göre değişebilmektedir. Biyofilm tabakası esas olarak bazal bir maya tabakası ile çok miktarda hif ve kalkoflor bağlayan hücre dışı matriksten oluşur. Hif oluşumu mutlak olmasa da çeşitli çevre koşullarında biyofilm oluşumu için gerekmektedir (27, 28). Buradan yola çıkılarak farnesolün *C. albicans*'ın biyofilm oluşturmasını bloke edebileceği düşünölmüş ve biyofilm içinde farnesolün birikimi kritik yoğunluğa ulaştığında biyofilmin dağılımında görev aldığı gösterilmiştir (29). Farnesolün etkinliği konsantrasyon bağımlıdır ve 300 µM/l konsantrasyonda biyofilm oluşumunu tamamen inhibe edebilmektedir (30). Mantar sonuçta farnesolün miktarını azaltıp artırarak biyofilm belli bir kalınlığa ulaştığında buradan parçaların koparak bir başka alana yerleşmesini gerçekleştirebilir.

Yapılan "microarray" çalışmalarda farnesolün 274 genin ekspresyonunu farklı şekilde değiştirdiği, 104 geni aktive ederken 170 geni aksi yönde etkilediği gösterilmiştir. Bu genlerin germinasyon, ilaç direnci, hücre duvar sentezi, demir transportu, hücre yüzey hidrofobisite ve stres yanıtında görevli olması farnesol varlığında, *C. albicans*'ın biyofilmle-
rinde çok sayıda hücrenel aktivitenin etkileneceğini düşündürmektedir (31). *Candida albicans* dışında da bazı mantarlarda QS molekülleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. *Uromyces phaseoli* metil 3,4 dimetoksisinnamat üreterek spor germinasyonunu nanomolar konsantras-
yonlarda inhibe edebilmektedir (4). Üredosporların bu inhibitör etkili maddelerin uzaklaştırıl-
madıkça çoğalamaması metabolizmalarını kontrol etmelerini sağlayabilir. Yine bir başka mantar *Glomerella cingulata* kültürlerinde, hücre yoğunluğunun 10^6 /ml yi aştığı durumlarda difüze olabilen bir molekülün etkisi ile miçel oluşumunda baskılanma izlenmektedir (4).

İnokulum yoğunluğundaki artış ile miçel oluşumunda baskılanma benzer şekilde *Ceratocystis (Ophiostoma) ulmi* kültürlerinde de gözlenmiştir. Burada etkili faktör farnesol değil, etil asetat ekstrakte edilen faktördür (32).

Feromonlar ile QS ilişkisi

Mantarlarda bu konuda ilk çalışmalar *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde yapılmış ve MAP kinaz kaskadının feromon yanıtı, agar invazyonu ve biyofilm yanıtını düzenlediği gösterilmiştir. Mayalardaki feromonlar, Gram-pozitif bakterilerdekine benzer şekilde "autoinducer-2" (AI-2) ve oligopeptit bağımlı QS sistemini anımsatmaktadır. Bu sinyaller bir hücre dışı reseptöre bağlanmakta, sinyal kaskadının aktivasyonu sonuçta özgül bir genin transkripsiyonu ile sonuçlanmaktadır (4).

Ustilago maydis'de bir feromon olan kısa farnesillenmiş peptitlerin etkisi ile *S. cerevisiae* hücrelerince üretilen faktöre benzer şekilde filamentasyon ve yüzey hidrofobisinde artış gözlenmektedir. Böylece ilgili moleküller virulans için düzenleyici bir işlev göstermiş olurlar (4).

Bir çalışmada, *Candida albicans* a/a hücrelerinin bir a faktörüne maruz kalması ile feromon etkisinin ortaya çıktığı ve sonuçta hif oluşumu ile bazı virulans faktörlerinin üretiminin düzenlendiği gösterilmiştir (33).

Isı ve üreme fazının hem farnesol üretimini hem de opak faza geçişi etkilemesi farnesol üretimi ile çiftleşme arasında bir ilişki bulunabileceğini de düşündürmektedir. Ancak henüz böyle bir ilişki gösterilmemiştir.

Zigomiçetlerde farklı çiftleşme tipleri arasında karoten bileşikleri (trispörük asit) aracılığı ile iletişim sağlanmaktadır. Trispörük asitin çiftleşmenin uyarılması, karotenoit üretimi, paraziti-
zizm gibi etkilere neden olduğu ve popülasyona yayılan sinyaller oluşturabildiği düşünül-
mektedir. Bu moleküller fungal test suşlarında aerial hifleri indüklerken, büyümeyi durdur-
maktadırlar (4).

Quorum sensing molekülleri bazı durumlarda aynı mikrobiyal topluluk dışında türler arası etkileşimlerde de görev alabilir. Örneğin, ortamda *P. aeruginosa* varlığında *C. albicans* morfolojisi etkilenmektedir. Bu bakteri tarafından salınan "3-oxo-C12 homoserine lactone" molekülünün fungal üreme hızını etkilemeksizin hif gelişimini baskıladığı gösterilmiştir (34). Quorum sensing sinyalleri konağa ya da yarıştıkları mikro-organizmaya karşı antibiyotik etkisi de gösterebilmektedir. *Aspergillus nidulans*'ın ölçülebilir miktarda QS molekülü üretmemekle birlikte farnesol varlığında apopitoza gidiş göstermesi, farnesolün *C. albicans*'a *Aspergillus* ile yarışında bir avantaj sağladığını düşündürmektedir. Benzer inhibitör etki

Fusarium graminearum üzerinde de gözlemlenmiştir (35). Farnesol mitokondride oluşan reaktif oksijen ara ürünlerini indükleyip, bir sinyal yolağını da inhibe ederek *S. cerevisiae*'nin üremesini 30 dakika içerisinde durdurabilmektedir. Farnesol, bakteri-mantar etkileşiminde de görev almakta, hem Gram-negatif hem de Gram-pozitif bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığını arttırmaktadır (4). Farnesolün 50-200 µM konsantrasyonlarında *Staphylococcus aureus*'un membran bütünlüğünü bozduğu gösterilmiştir (4).

Ayrıca bazı antifungal ilaçların subinhibitör konsantrasyonlarının *C. albicans*'ın farnesol üretimini uyararak artırdığı gösterilmiştir (4).

Mikrobiyal topluluklarda QS; genel değerlendirme:

1. Tüm mikrobiyal sistemlerde QS düzenlemeleri üzerine dış faktörlerin etkisi vardır ve bazı çevresel koşulların *C. albicans*'ın QS moleküllerini etkilediği gösterilmiştir.
2. QS sinyalleri diğer mikro-organizmalarca üretilen antagonistler tarafından parçalanabilir ya da inhibe edilebilir.
3. Kimyasal ve fiziksel çevre, sinyal moleküllerinin yarı ömrünü ve dağılımını etkileyebilir. Bazı sinyaller pH ve oksidasyona duyarlıdır. Biosurfaktanlar sinyal moleküllerinin dağılımını değiştirebilirler. *Pseudomonas* kinolon sinyalleri ve *Ustilago maydis* feromonları surfaktan varlığından etkilenebilirler.
4. Bir furanosil borat diester QS molekülü (AI-2) birçok bakteri türü arasındaki iletişimi yönlendirir. Biyofilm oluşumu, virulans faktörlerinin uyarılması, konak yanıtından kaçış gibi birçok özelliği yöneten genlerin regülasyonunda görevli olan bu molekül tek tür veya farklı türler arasında görev alır. Mantarlarda ise böyle türler arası sinyalleşme sağlayan moleküller henüz bilinmemektedir (4).

Quorum sensing inhibitörlerinin tedavideki yeri

Quorum sensing sinyal moleküllerinin mikro-organizmaların virulans faktörlerini uyarması ve biyofilm oluşumunda görev alması yeni ilaçların geliştirilmesi için bu molekülleri önemli bir hedef haline getirmiştir. Quorum sensing inhibitörleri ile ilgili araştırmalar henüz deneme aşamasında olup çalışmalar bakteriler üzerinde yoğunlaşmıştır. Henüz bu konuda mantarlarla ilişkili çalışmaların bulunmaması nedeni ile bu başlık altında bakteriler ile yapılmış çalışma sonuçlarına yer verilmiştir.

Quorum sensing moleküllerinin inhibisyonu üç mekanizma üzerinden sağlanmaktadır (36):

a) QS molekülünün üretiminin önlenmesi

Gram-negatif bakterilerde önemli bir sinyal molekülü olan AHL'nin sentezinde görevli bir enzimi inhibe eden "triclosan" sonuçta bu molekülün sentezini de engellemiş olur. Ayrıca bazı makrolit antibiyotiklerin de benzeri etkileri olduğu bilinmektedir. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında yapılan bir çalışmada, azitromisin sinyal moleküllerini kodlayan genin transkripsiyonunu azalttığı ve elastaz gen ekspresyonunu önleyerek infeksiyonun şiddetini azaltarak alternatif bir tedavi yaklaşımı sağladığı gösterilmiştir (37).

b) QS molekülünün yıkılması veya inhibisyonu

Sentezlenmiş olan QS moleküllerinin parçalanması diğer bir hedef olabilir. Sinyalin yıkıma uğratılmasında Gram-negatif bakterilerde AHL inhibitörleri olan AHL laktonaz ve AHL açılaz

enzimleri, Gram-pozitif bakterilerde protein kinaz inhibitörleri olan "closantel" ve "RWJ-49815" in etkili olduğu gösterilmiştir (38).

c) QS sinyalinin alınmasının önlenmesi

Quorum sensing sinyalinin alınmasını önlemek amacıyla sinyal reseptör proteinlerinin ya da AHL analogları aracılığı ile reseptöre bağlanmanın azaltılması da üçüncü mekanizma olarak denmektedir. Bir kırmızı makro alg olan *Delisea pulchra*'nın ürettiği ve veziküllerinde depolamış olduğu furanon bileşikler yapısal olarak AHL sinyal analogu olup LuxR proteinine bağlanarak AHL'nin ayrılmasına neden olduğu ve böylece *Vibrio fisheri*'nin tedavisinde bakteriyel QS'i inhibe ettiği bildirilmektedir (38). Ayrıca sentetik bir furanon olan C-30'un *P. aeruginosa*'daki QS'i AHL sinyali ile yarışa girerek inhibe ettiği fare modelinde akciğerlerde bakterinin persistansına engel olduğu gösterilmiştir (39).

Sonuçlar

Quorum sensing sinyallerinin mikro-organizmaların patojenitesinde ve infeksiyon oluşum sürecinde katkısı bilinmektedir. Virulans, ilaç direnci ve biyofilm oluşumu ile ilişkili genlerin düzenlenmesinde önemli görevler üstlenmektedirler. Bu konuda yapılan araştırmalar daha çok bakteriler üzerinde olsa da son yıllarda mantarlarda da konunun incelendiği dikkati çekmektedir. Özellikle *C. albicans*'ın QS moleküllerini araştırmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Ancak halen mantarlarda QS molekülleri ve görevleri ile ilgili birçok bilinmeyen vardır.

Bakteriler üzerinde yapılan araştırmalarda QS moleküllerinin sistemik infeksiyonlarda etkili olduğu ve dolayısıyla terapötik bir hedef olarak değerlendirilmesinin yararlı olacağı düşünülmektedir. Biyofilm oluşturan suşlar ile ortaya çıkan kronik infeksiyonların kontrol altına alınmasında QS inhibitörleri önemli bir destek sağlayabilir. Bununla beraber, QS yolağının aynı zamanda insan mikroflorası da dahil olmak üzere koruyucu mikrobiyal topluluklarda da görev alması, QS mekanizmalarını etkileyen ilaçların bu topluluklardaki düzeni yararlı bir şekilde etkileyip etkilemeyeceği sorusunu da akla getirmektedir.

Sonuç olarak, QS moleküllerinin mantarlarda biyofilm oluşumu ve virulans üzerine etkili olduğunu gösteren birçok çalışma vardır. Bu durumda mantarlarda QS moleküllerini engelleyecek bir tedavi stratejisi infeksiyonların önlenmesi ve mortalitenin azaltılması için hiç şüphesiz umut verici gözükmemektedir.

Kaynaklar

1. Daniels R, Vanderleyden J, Michiels J. Quorum sensing and swarming migration in bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 2004; 28: 261-289.
2. Fuqua WC, Winans SC, Greenberg EP. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *J Bacteriol* 1994; 176: 269-275.
3. Keller L, Surette GM. Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. *Nature Reviews/ Microbiology* 2006; 4: 249-258.
4. Hogan DA. Talking to Themselves: Autoregulation and quorum sensing in fungi. *Eukaryot Cell* 2006; 5: 613-619.
5. Spoering AL, Gilmore MS. Quorum sensing and DNA release in bacterial biofilms. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9: 133-137.
6. Parsek MR, Greenberg EP. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol* 2005; 13: 27-33.
7. Suntharalingam P, Cvitkovitch DG. Quorum sensing in streptococcal biofilm formation. *Trends Microbiol* 2005; 13: 3-6.

8. Pearson JP, Van Delden C, Iglewski BH. Active efflux and diffusion are involved in transport of *Pseudomonas aeruginosa* cell-to-cell signals. *J Bacteriol* 1999; 181: 1203–1210.
9. Saraçlı M. "Quorum sensing": Mikro-organizmalar iletişim mi kuruyor? *Gülhane Tıp Dergisi* 2006; 48: 244–250.
10. Riedel K, Hentzer M, Geisenberger O. N-acylhomoserine lactone mediated communication between *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* in mixed biofilms. *Microbiology* 2001; 147: 3249–3262.
11. Hazen KC, and Cutler JE. Autoregulation of germ tube formation by *Candida albicans*. *Infect Immun* 1979; 24: 661–666.
12. Lingappa BT, Prasad M, Lingappa Y, Hunt DF, Biemann K. Phenethyl alcohol and tryptophol: autoantibiotics produced by the fungus *Candida albicans*. *Science* 1969; 163: 192–194.
13. 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.
14. Oh KB, Miyazawa H, Naito T, Matsuoka H. Purification and characterization of an autoregulatory substance capable of regulating the morphological transition in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2001; 98: 4664–4668.
15. Mosel DD, Dumitru R, Hornby JM, Atkin AL, Nickerson KW. Farnesol concentrations required to block germ tube formation in *Candida albicans* in the presence and absence of serum. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71: 4938–4940.
16. Hornby JM, Kebaara BW, Nickerson KW. Farnesol biosynthesis in *Candida albicans*: cellular response to sterol inhibition by zaragozic acid B. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2366–2369.
17. Hornby JM, Nickerson KW. Enhanced production of farnesol by *Candida albicans* treated with four azoles. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2305–2307.
18. Dumitru R, Hornby JM, Nickerson KW. Defined anaerobic growth medium for studying *Candida albicans* basic biology and resistance to eight antifungal drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2350–2354.
19. Kruppa M, Krom BP, Chauhan N, Bambach AV, Cihlar RL, Calderone RA. The two-component signal transduction protein Chk1p regulates quorum sensing in *Candida albicans*. *Eukaryot Cell* 2004; 3: 1062–1065.
20. Blankenship JR, Mitchell AP. How to build a biofilm: a fungal perspective. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9: 588–594.
21. Chen H, Fujita M, Feng Q, Clardy J, Fink GR. Tyrosol is a quorum sensing molecule in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2004; 101: 5048–5052.
22. Alem MAS, Oteef MDY, Flowers TH, Douglas LJ. Production of tyrosol by *Candida albicans* biofilms and its role in quorum sensing and biofilm development. *Eukaryot Cell* 2006; 5: 1770–1779.
23. Douglas LJ. *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol* 2003; 11: 30–36.
24. Davies DG, Parsek MR, Pearson JP, Iglewski BH, Costerton JW, Greenberg EP. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998; 280: 295–298.
25. Shih P, Huang C. Effects of quorum sensing deficiency on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and antibiotic resistance. *J Antimicrobiol Chemother* 2002; 49: 309–314.
26. Sticklers D, Morris N, Mclean R, Fuqua C. Biofilms on indwelling urethral catheters produce quorum sensing signal molecules *in situ* and *in vitro*. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64: 3486–3490.
27. Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol* 2001; 183: 5385–5394.
28. Ramage G, Saville SP, Thomas DP, Lopez-Ribot JL. *Candida* biofilms: an update. *Eukaryot Cell* 2005; 4: 633–638.
29. Ramage G, Saville SP, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum sensing molecule. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 5459–5463.
30. Mukherjee PK, Zhou G, Munyon R, Ghannoum MA. *Candida* biofilm: a well-designed protected environment. *Med Mycol* 2005; 43: 191–208.
31. Cao YY, Cao YB, Xu Z, et al. cDNA microarray analysis of differential gene expression in *Candida albicans* biofilm exposed to farnesol. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 584–589.
32. Hornby JM, Jacobitz-Kizzier SM, McNeel DJ, Jensen EC, Treves DS, Nickerson KW. Inoculum size effect in dimorphic fungi: extracellular control of yeast-mycelium dimorphism in *Ceratocystis ulmi*. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70: 1356–1359.

33. Bennett RJ, Uhl MA, Miller MG, Johnson AD. Identification and characterization of a *Candida albicans* mating pheromone. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 8189-8201.
34. Hogan DA, Vik A, Kolter R. A *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing molecule influences *Candida albicans* morphology. *Mol Microbiol* 2004; 54: 1212-1223.
35. Semighini C, Hornby J, Dumitru R, Nickerson K, Haris S. Farnesol-induced apoptosis in *Aspergillus nidulans* reveals a possible mechanism for antagonistic interactions between fungi. *Mol Microbiol* 2006; 59: 753-764.
36. Rasmussen TB, Givskov M. Quorum sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *Int J Med Microbiol* 2006; 296: 149-161.
37. Tateda K, Matsumoto N, Furuya N, Nagashima T. Direct evidence for antipseudomonal activity of macrolids: Exposure-dependent bactericidal activity and inhibition of protein synthesis by erythromycin, clarithromycin and azithromycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2271-2275.
38. Zhang LH, Dong YH. Quorum sensing and signal interference: diverse implications. *Mol Microbiol* 2004; 53: 1563-1571.
39. Hentzer M, Wu H, Andersen JB. Et al. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *EMBO J* 2003; 22: 3803-3815.