

8. Sethi S., Murphy T.F. Infection in the pathogenesis and course of chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359(22): 2355—65.
9. Chiba S., Ohta H., Abe K. et al. The diagnostic value of the interstitial biomarkers KL-6 and SP-D for the degree of fibrosis in combined pulmonary fibrosis and emphysema. *Pulm. Med.* 2012; 2012: 492960.
10. Arai S., Kurasawa K., Maezawa R. et al. Marked increase in serum KL-6 and surfactant protein D levels during the first 4 weeks after treatment predicts poor prognosis in patients with active interstitial pneumonia associated with polymyositis/dermatomyositis. *Mod. Rheumatol.* 2012. [Epub ahead of print.]
11. Ishikawa N., Hattori N., Yokoyama A., Kohno N. Utility of KL-6/MUC1 in the clinical management of interstitial lung diseases. *Respir. Invest.* 2012; 50(1): 3—13.
12. Granizo J.J., Gimnez M.J., Barber J. et al. The efficacy of ceftidoren pivoxil in the treatment of lower respiratory tract infections, with a focus on the Per-pathogen bacteriologic response in infections caused by streptococcus pneumoniae and haemophilus influenzae: A pooled analysis of seven clinical trials. *Clin. Ther.* 2006; 12(28): 2061—9.
13. Di Marco F., Braidò F., Santus P. et al. The role of ceftidoren in the treatment of lower community-acquired respiratory tract infections (LRTIs): from bacterial eradication to reduced lung inflammation and epithelial damage. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2014; 18: 321—32.
14. Kyriakidou K.G., Rafailidis P., Matthaiou D.K. et al. Short-versus long-course antibiotic therapy for acute pyelonephritis in adolescents and adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin. Ther.* 2008; 30: 1859—68.
15. Talan D.A., Stamm W.E., Hooton T.M. et al. Comparison of ciprofloxacin (7 days) and trimethoprim-sulfamethoxazole (14 days) for acute uncomplicated pyelonephritis in women: a randomized trial. *J. A. M. A.* 2000; 283: 1583—90.
16. Gupta K., Hooton T.M., Naber K.G. et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: a 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Infect. Dis.* 2011; 52: 103—20.
17. National Institute of Health (Internet). Nonthaburi; 2010 (cited 2012 Feb 20). National Antimicrobial Resistance Surveillance Center of Thailand. Available from: <http://narst.dmsc.moph.go.th/a8.php>.
18. Ramakrishnan K., Scheid D.C. Diagnosis and management of acute pyelonephritis in adults. *Am. Fam. Physician.* 2005; 71: 933—42.
19. Sanchez M., Collivent B., Miro O. et al. Short term effectiveness of ceftriaxone single dose in the initial treatment of acute uncomplicated pyelonephritis in women. A randomized controlled trial. *Emerg. Med. J.* 2002; 19: 19—22.
20. Wells W.G., Woods G.L., Jiang Q., Gesser R.M. Treatment of complicated urinary tract infection in adults: combined analysis of two randomized, double-blind, multicentre trials comparing ertapenem and ceftriaxone followed by appropriate oral therapy. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004; 53: 67—74.
21. Sadaba B., Azanza J.R., Quetglas E.G., Campanero M.A., Honorato J., Coronel P. et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic serum and urine profile of ceftidoren following single-dose and multiple twice- and thrice-daily regimens in healthy volunteers: a phase I study. *Rev. Esp. Quimioter.* 2007; 20: 51—60.
22. Cuevas O., Cercenado E., Gimeno M., Marin M., Coronel P., Bouza E. Comparative in vitro activity of ceftidoren and other antimicrobials against Enterobacteriaceae causing community-acquired uncomplicated urinary tract infections in women: a Spanish nationwide multicenter study. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 67: 251—60.
23. Monmaturapoj T., Montakantikul P., Tragulpiankit P. et al. A prospective, randomized, double dummy, placebo-controlled trial of oral ceftidoren pivoxil 400 mg once daily as switch therapy after intravenous ceftriaxone in the treatment of acute pyelonephritis. *Int. J. Infect. Dis.* 2012; 16: e843—9.

Поступила 27.05.2016

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 579.843.1:579.22

Заднова С.П., Плеханов Н.А., Смирнова Н.И.

МЕХАНИЗМЫ ВЫЖИВАНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ОСМОЛЯРНОСТИ

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, 410005, Саратов, ул. Университетская, д. 46

Возбудитель холеры, являясь патогеном человека и естественным обитателем водоемов, в процессе жизненного цикла постоянно находится в условиях изменения осмолярности среды, создаваемой разным содержанием хлорида натрия. Однако *Vibrio cholerae* выработал механизмы, позволяющие ему адаптироваться к смене среды обитания. В обзоре приведены данные о влиянии концентрации NaCl на выживаемость токсигенных штаммов *V. cholerae* и механизмах адаптации к условиям различной осмолярности. Показано, что при низком содержании NaCl увеличивается экспрессия генов, необходимых для формирования клеточной стенки и роста клеток, в условиях высокой концентрации NaCl повышается транскрипция генов, кодирующих системы транспорта, выводящие ионы натрия, а также ответственных за биосинтез осмопротекторов. Обсуждается роль двух транскрипционных регуляторов *CosR* и *OscR*, координированно изменяющих экспрессию генов в зависимости от осмолярности среды. Дальнейшее изучение механизмов адаптации *V. cholerae* к изменению содержания хлорида натрия будет способствовать расширению знаний о биологии и экологии возбудителя.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*; выживаемость; концентрация хлорида натрия; экспрессия генов; осмопротекторы.

Для цитирования: Заднова С.П., Плеханов Н.А., Смирнова Н.И. Механизмы выживания возбудителя холеры в условиях различной осмолярности. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016; 21(4): 225–233. DOI: 10.17816/EID40923

Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Smirnova N.I.

MECHANISMS OF CHOLERA AGENT PERSISTENCE UNDER VARYING OSMOLARITY CONDITIONS

Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of the Federal Service for Consumer Rights Protection and Human Welfare, 46, Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation

Для корреспонденции: Заднова Светлана Петровна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаборатории патогенных вибрионов ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, e-mail: rusrapi@microbe.ru

During the lifecycle cholera agent, being human pathogen and natural reservoir inhabitant, is constantly exposed to varying osmolarity environments, induced by different sodium chloride content. However, Vibrio cholerae has created the mechanisms providing for adaptation to changes of living surroundings. The review covers the data on the impact of NaCl on the survivability of toxigenic V. cholerae strains, and information on mechanisms of adaptation to varying osmolarity. It is demonstrated that at low NaCl contents expression of genes, necessary for cell wall formation and cell growth is elevated; under high NaCl concentration conditions for transcription of genes, encoding transport systems, removing sodium ions, and also responsible for biosynthesis of osmoprotectors, are increased. There is discussed the role of two transcription regulators, CosR and OscR, cooperatively altering gene expression in accordance with particular environmental osmolarity. Further studies into the mechanisms of V. cholerae adaptation to changes of sodium chloride concentration will extend the knowledge about biology and ecology of the pathogen.

Key words: *Vibrio cholerae*; persistence; sodium chloride content; gene expression; osmoprotectors

For citation: Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Smirnova N.I. Mechanisms of Cholera Agent Persistence under Varying Osmolarity Conditions. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. Epidemiology and Infectious Diseases, Russian journal* 2016; 21(4): 225-233. (In Russ.) DOI: 10.17816/EID40923

For correspondence: Svetlana P. Zadnova, MD, PhD, DSci., leading researcher of the Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of the Federal Service for Consumer Rights Protection and Human Welfare, 46, Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: microbe@san.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received 17.03.2016

Accepted 20.06.2016

Холера, вызываемая токсигенными штаммами *Vibrio cholerae* O1 серогруппы биовара Эль-Тор, в настоящее время является одной из самых распространенных водных инфекций в странах Южной Азии, Африки и Латинской Америки. Из эндемичных районов возбудитель постоянно завозится в различные страны мира, в том числе и в Российскую Федерацию, вызывая как вспышки, так и единичные случаи болезни, что указывает на неблагоприятный прогноз по холере на глобальном уровне и в России в частности [1, 2].

Несмотря на способность *V. cholerae* вызывать тяжелую болезнь с диарейным синдромом, человек не является обязательным звеном в жизненном цикле патогена. В настоящее время общепризнано, что *V. cholerae* является аутохтонным обитателем открытых водоемов и, образуя ассоциации с фито- и зоопланктоном, долгое время сохраняется в них [3—7]. При этом идеальной средой обитания возбудителя холеры во внешней среде является солоноватая вода эстуариев [4, 8, 9].

В результате изучения экологии холерного вибриона установлен ряд физических, химических, биологических и климатических факторов (температура, pH, осмотическое давление, концентрация кислорода, наличие питательных веществ, высота поверхности моря, количество солнечных часов, осадков, присутствие бактериофагов и простейших, зоо- и фитопланктона и т. д.), оказывающих влияние на численность популяции *V. cholerae* в водной среде [6, 8, 10—15]. Среди них существенными признаны изменение температуры и осмотическое давление. Показано, что эпидемии холеры на эндемичной территории коррелируют с увеличением минерализации воды рек и эстуариев [9, 12—16].

Проблема сохранения *V. cholerae* в условиях разной осмотической активности актуальна и для Российской Федерации, принимая во внимание большое коли-

чество водоемов как с пресной, так и соленой водой, присутствующих на территории нашей страны, из которых выделяют токсигенные штаммы *V. cholerae* (при этом не только в период вспышек, но и в отсутствие эпидемических осложнений) [17].

Необходимо отметить, что при инфекционном процессе возбудитель холеры также подвергается воздействию разной осмотической активности. Так, концентрация хлорида натрия в кишечном содержимом может достигать 0,3 М и выше [18], в то же время на поздней стадии инфекции (в стуле больного, имеющем вид рисового отвара) его концентрация составляет всего 0,14 М [9, 19]. Высказывается предположение, что изменение концентрации ионов натрия является одним из сигналов, вызывающих изменение экспрессии генов вирулентности при нахождении *V. cholerae* в макроорганизме [9, 20, 21].

Учитывая, что как кишечный патоген и обитатель открытых водоемов возбудитель холеры в течение жизненного цикла постоянно подвергается воздействию осмотического стресса, в данном обзоре обобщены данные о механизмах адаптации токсигенных штаммов *V. cholerae* к условиям различной осмотической активности, создаваемой хлоридом натрия.

Влияние разных концентраций NaCl на выживаемость *V. cholerae*

Холерный вибрион является галлофилом и для нормального роста ему необходима 2,0—2,5% (или 5—15 мМ) концентрация NaCl в среде выращивания [22, 23]. Однако при высокой температуре и присутствии в достаточном количестве питательных субстратов токсигенные штаммы *V. cholerae* могут размножаться в средах как с низкой, так и с высокой концентрацией хлорида натрия [24]. Так, при температуре 4°C и 1% концентрации NaCl в воде штаммы *V. cholerae* биовара Эль-Тор выжили до 45 дней, а при содержании NaCl 0,1—3%

и температуре 25°C — до 72 дней [22]. При температуре 30°C (рН 8,5) и 15% концентрации хлорида натрия штаммы *V. cholerae* усиленно прикреплялись и размножались на копеподах (вселоногих ракообразных) [4, 15]. Холерные вибрионы могут расти в среде и без NaCl, но в присутствии других солей натрия [8]. Кроме того, дефицит, а также избыток хлорида натрия компенсируются увеличением концентрации органических веществ, которые способствуют усиленному росту холерного вибриона. Так, присутствие органических веществ в пресной воде способствовало выживанию *V. cholerae* и при 45% концентрации NaCl [8, 15, 22].

К.И. Pflughoeft и соавт. [25] экспериментально доказали, что штаммы *V. cholerae*, выращенные в условиях повышенного содержания хлорида натрия, в дальнейшем хорошо росли как в средах с низкой (5 мМ), так и с высокой (500 мМ) концентрацией NaCl и в смешанной популяции вытесняли не адаптированные клоны. Авторы высказали предположение, что попадание солеадаптированных (например, находящихся в морской воде) штаммов *V. cholerae* в кишечник человека, имеющий высокую осмолярность, способствует их быстрому росту и размножению в отличие от штаммов, обитавших в пресных водоемах, у которых в данных условиях может быть осмотический шок и задержка роста. Кроме того, даже небольшое повышение осмолярности пресноводного водоема (например, в результате заброса морской воды) может вызывать резкий рост патогена и как следствие повышение вероятности заражения человека.

Механизмы адаптации *V. cholerae* в условиях различной осмолярности

Физиолого-биохимические механизмы устойчивости к осмотическому стрессу уже давно исследуются на таких модельных микроорганизмах, как *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* [26—29]. В результате выявлено, что осмотический стресс оказывает влияние на многие процессы клеточного метаболизма как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. При этом активность некоторых генов, индуцируемых изменением осмолярности среды, может иметь явную адаптивную функцию, в то же время экспрессия других генов не обнаруживает столь очевидной функции и, возможно, подготавливает клетки к воздействию других стрессовых факторов [30]. Наряду с механизмами, присущими отдельным видам, выявлены и общие, способствующие выживанию бактерий в условиях осмотического стресса, в том числе активация транспортных систем и биосинтез осмопротекторов (осмолитов или совместимых растворимых веществ). Указанные механизмы характерны и для возбудителя холеры [26, 30—34].

В модельных экспериментах N.J. Shikuma и F.H. Yildiz [9] установили, что даже небольшое увеличение концентрации NaCl (с 0 до 0,5 М) приводит к изменению экспрессии 333 генов, большинство из которых вовлечены в метаболизм клеток *V. cholerae*, в процесс формирования клеточной оболочки, патогенез. Однако значительное количество генов (42,9 %) кодируют биосинтез белков с неустановленной функцией. При этом авторы выявили три группы генов — транскрипция первой группы активировалась в условиях повышенной концентрации NaCl (0,5 М), второй — при средней (0,1—0,2 М), третьей — при низкой.

При культивировании *V. cholerae* на средах с низким содержанием NaCl выявлено увеличение транскрипции генов, кодирующих биосинтез компонентов клеточной стенки — мембраносвязанных олигосахаридов (MdoG, MdoH), а также полиаминов (SpeA, SpeB) [9]. Как известно, полиамины играют важную роль в процессах клеточного роста, регуляции синтеза ДНК, РНК и белка, стимулируя их транскрипцию и трансляцию [35]. В условиях низкой осмолярности среды мембраносвязанные олигосахариды также играют ключевую роль в сохранении структуры клеточной оболочки у *P. aeruginosa* и регулируют объем периплазмы у *E. coli* [36, 37].

Вторая группа генов, активируемых при повышении концентрации хлорида натрия, включала структурные и регуляторные гены, необходимые для формирования биопленки. Иными словами, концентрация хлорида натрия модулирует прикрепление *V. cholerae* к поверхности и архитектуру биопленки [9]. Как известно, биопленка способствует выживанию патогена как во внешней среде, так и в макроорганизме (находящиеся в составе биопленки холерные вибрионы лучше защищены от уничтожения простейшими и более инфекционны в отличие от свободноживущих изолятов) [4, 38, 39]. Следует отметить, что у *E. coli* в условиях изменения осмолярности важную роль в регулировании формирования биопленки играют белки двухкомпонентных систем CpxA-CpxR и EnvZ-OmpR [40]. Однако у *V. cholerae* указанные системы не участвуют в данном процессе [9].

Выявлено, что наибольшая продукция двух основных факторов патогенности (холерного токсина и токсинорегулируемых пилей адгезии) и регуляторных генов, контролирующих их экспрессию (*tcpP*, *tcpH*, *toxT*) также наблюдается при среднем (0,1—0,2 М) содержании NaCl в среде выращивания, что соответствует условиям нахождения *V. cholerae* в кишечнике [9].

В условиях повышенной концентрации NaCl в штаммах *V. cholerae* увеличивается биосинтез пигмента меланина, который одновременно защи-

щает клетки от повреждающего действия ультрафиолетовых лучей (солнечного света) [41].

Культивирование *V. cholerae* в условиях высокой концентрации хлорида натрия индуцировало биосинтез осмопротектора эктоина и Na^+/H^+ -антипортера, про которые будет сказано ниже, а также белков—поринов внешней мембраны — OmpU/OmpT [9], что вполне естественно, учитывая их расположение на поверхности клетки. Содержание белка OmpU, выполняющего также адгезивную функцию и защищающего клетки от действия желчи и органических кислот, в зависимости от осмолярности среды может составлять 30—60% от количества всех белков внешней мембраны [42]. Необходимо отметить, что белкам внешней мембраны принадлежит ключевая роль в адаптации к изменению концентрации ионов натрия не только у возбудителя холеры, но и у других микроорганизмов. Осморегулируемыми белками являются OmpF и OmpC *E. coli* [43], OmpK35 и OmpK36 *Klebsiella pneumoniae* [44], OmpW и OmpV *V. parahaemolyticus* и *V. alginolyticus* [45, 46].

Увеличение экспрессии генов в ответ на повышение концентрации NaCl у возбудителя холеры связано с повышением биосинтеза альтернативных сигма-субъединиц РНК-полимеразы — *rpoS* (σ^{38}), *rpoH* (σ^{32}) и *rpoN* (σ^{54}) [47]. Данный факт является закономерным процессом, так как специфическое накопление альтернативных сигма-субъединиц обеспечивает своевременную транскрипцию набора генов, необходимых для выживания в условиях стресса, и является общим механизмом, позволяющим адаптироваться к стрессовым воздействиям различным протеобактериям [27, 48]. Например, у кишечной палочки продукция RpoS при стрессе (низкая температура, резкое изменение pH, высокая осмолярность) увеличивается в 3—20 раз [27]. При этом необходимо отметить, что у *E. coli* RpoS играет ключевую роль в устойчивости к высокой осмолярности среды, создаваемой как NaCl, так и KCl, LiCl и сахарозой [49].

Важная роль в регуляции содержания NaCl в цитоплазме бактерий в условиях повышенной осмолярности принадлежит различным транспортным системам (помпам), которые активно выводят ионы натрия наружу, поглощая ионы водорода или калия. Так, в удалении токсичных для клетки ионов Na^+ (а также Li^+) при их значительной концентрации в клетке в обмен на поступление H^+ участвует антипортерная система [9]. Антипортер холерного вибриона состоит из двух мембранных белков — NhaA и NhaB. Экспрессия гена *nhaA* (VC1627) позитивно контролируется белком-регулятором NhaR. Ген *nhaB*, расположенный в коровой части хромосомы, относится к группе генов «домашнего хозяйства» и незаменим в случае утраты гена *nhaA* [21, 24]. Белки антипортерной системы холерного

вибриона гомологичны белкам других бактерий (*V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *E. coli*, *S. enteritidis*). Необходимо отметить, что Na^+/H^+ -антипортер участвует также в создании Na^+ -трансмембранного электрохимического потенциала, энергия которого используется для работы жгутика и транспорта веществ, а также регуляции внутриклеточного pH и объема клетки при нахождении бактерий в условиях щелочной реакции среды [24].

Быстро компенсируют осмотическое давление в клетках микроорганизмов за счет активного выведения ионов Na^+ и поглощения из среды ионов K^+ , который в значительно меньшей степени связывает воду, чем ион натрия, такие системы как Kup, Trk и Kdp, выполняющие ключевую роль в поддержании внутриклеточной осмолярности, тургора клеток и pH цитоплазмы у кишечной палочки [50—52]. Необходимо отметить, что для поддержания внутриклеточной осмолярности и тургорного давления при осмотическом стрессе важна не столько концентрация ионов калия в клетках бактерий, сколько соотношение Na^+/K^+ [47, 50, 51]. При внезапном повышении осмотического давления сначала активируется система Trk, обладающая низкой аффинностью к ионам калия и включающая четыре гена (*trkE*, *A*, *G*, *H*). Белок TrkE является АТФазой, TrkA участвует в связывании NAD^+ , два гомологичных белка TrkG и TrkH локализованы в мембране [34, 52, 53]. При этом у большинства штаммов *E. coli*, так же как и других бактерий, присутствует только один модуль (в основном TrkH). Далее, при продолжающемся стрессе (или дефиците K^+) начинает экспрессироваться система Kdp, имеющая высокое сродство к калию и образующая комплекс из четырех белков (Kdp FABC). Белок KdpA участвует в формировании канала, KdpB является АТФазой, KdpC выполняет роль каталитического шаперона, а белок KdpF содержит трансмембранный домен и стабилизирует данный комплекс [34, 54]. Транспортная система Kup состоит из одного белка и не участвует в процессах осморегуляции при повышенной концентрации NaCl. Однако данная система индуцируется осмолярностью, создаваемой значительным содержанием сахаров, а также при резком снижении pH среды, т. е. в условиях, когда система Kdp не работает, а активность Trk резко снижена [55].

Роль рассмотренных выше транспортных систем в регуляции осмотического давления у возбудителя холеры до конца не изучена. Однако установлено, что в ответ на повышение концентрации ионов натрия увеличивается экспрессия гена *trkH*, что указывает на важную роль механизма выведения ионов Na^+ и поглощения K^+ в адаптации *V. cholerae* в условиях высокой концентрации NaCl [47].

Одним из наиболее исследованных механизмов компенсации осмотического давления среды

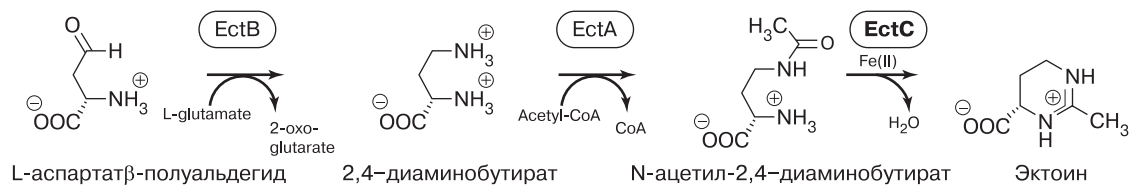


Рис. 1. Схема биосинтеза эктоина у бактерий [56].

у микроорганизмов является биосинтез осмопротекторов (осмолитов) — низкомолекулярных нейтральных веществ, синтезируемых самой клеткой или поглощаемых из окружающей среды. Осмолиты обладают высокой растворимостью, способны проникать через клеточную мембрану путем регулируемого транспорта и защищать ферменты от денатурации. К осмопротекторам относятся некоторые аминокислоты и их производные (глутамат, пролин, глицин-бетаин, эктоин), а также сахара (трегалоза, маннит, сахароза) [25, 34]. Необходимо отметить, что осмолиты в значительном количестве присутствуют в окружающей среде, так как их синтезируют *de novo* многие бактерии, растения и животные. Кроме того, некоторые клеточные компоненты (например, белки и липиды) могут гидролизаться с образованием предшественников специфических осморегуляторов, таких как пролин и бетаин [30]. Считается, что у граммотрицательных бактерий при осмотическом стрессе удаление ионов Na^+ и поглощение K^+ является первичным ответом. При этом значительная концентрация калия в клетке может ингибировать активность некоторых ферментов, поэтому длительное нахождение клеток в условиях повышенной осмолярности или ее дальнейшее повышение служат триггером для вторичного ответа — биосинтеза осмолитов [51]. Так, поглощение ионов K^+ наблюдается при росте *V. cholerae* на средах с 200 мМ содержанием NaCl , в то же время при повышении концентрации соли в среде выше 200 мМ в цитоплазме начинают накапливаться осмопротекторы [25]. Х. Фу и соавт. [47] с помощью ПЦР в режиме реального времени показали, что в клетках *V. cholerae*, подвергшихся осмотическому стрессу (5% NaCl), повышается экспрессия генов, участвующих в биосинтезе глутамата. Полученные данные указывают, что продукция осмопротектора глутамата является важным механизмом, способствующим выживанию возбудителя холеры в условиях высокого содержания хлорида натрия. В то же время экспрессия протон/глутамат-симпортера *GltP* и натрий/глутамат-симпортера *GltS*, участвующих соответственно в парном транспорте глутамата и H^+/Na^+ и активируемых у большинства бактерий параллельно с биосинтезом глутамата, у возбудителя холеры снижена. Данная стратегия согласуется с механизмом *E. coli* в ответ на осмотический

стресс и указывает, что поглощение глутамата из внешней среды при осмотическом стрессе не является необходимым для данных микроорганизмов.

Для синтеза осмопротектора эктоина (циклическая иминокислота) необходимо участие аспартокиназы и трех ферментов — EctB (L-2,4-диаминобутират трансминаза, EC 2.6.1.76), EctA (2,4-диаминобутират ацетилтрансфераза, EC 2.3.1.178) и EctC (эктоинсинтаза, EC 4.2.1.108) (рис. 1) [56]. Путь биосинтеза эктоина достаточно консервативен в отношении ферментов и организации *ect*-оперона у разных бактерий. У возбудителя холеры гены, кодирующие данные ферменты,

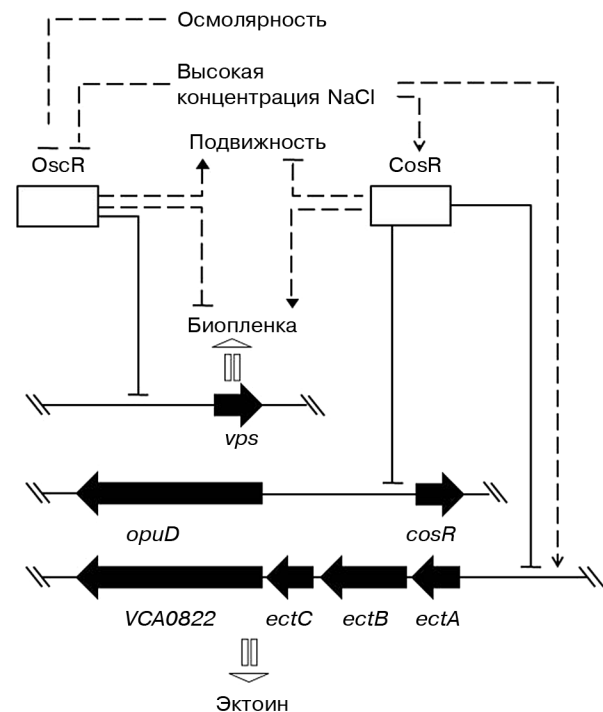


Рис. 2. Модель координированного изменения активности генов *V. cholerae* регуляторами OsmR и CosR. Транскрипция *cosR* активируется при повышении концентрации хлорида натрия. Белок CosR репрессирует экспрессию генов, кодирующих транспортер осмопротекторов *OpuD*, ферментов, участвующих в биосинтезе эктоина, а также подвижность, но активирует процесс формирования биопленки. Экспрессия *osmR* увеличивается при снижении осмолярности среды и содержании ионов натрия. OsmR репрессирует формирование биопленки, снижая транскрипцию генов *vps*, ответственных за биосинтез экзополисахарида, но увеличивает подвижность [9,58].

расположены на малой хромосоме. Субстратом для биосинтеза эктоина является L-аспартат-β-полуальдегид, который в свою очередь синтезируется из глутамата [9, 25, 56]. Показано, что штаммы *V. cholerae*, имеющие делецию в гене *ectA*, не способны расти на средах с высокой осмолярностью. При этом эктоин синтезируется в условиях повышенной осмолярности среды, создаваемой как солями (NaCl, KCl), так и сахарами (лактоза), что указывает на зависимость экспрессии *ectA* от осмолярности среды, а не от содержания каких-либо специфичных ионов [9].

В то же время в геноме холерного вибриона не выявлено генов *bet*, ответственных за биосинтез глицин-бетаина. Однако большинство представителей рода *Vibrio* синтезируют данный осмопротектор из холина и экспрессируют его во внешнюю среду. При нахождении в составе биопленки в сообществе с другими бактериями штаммы *V. cholerae* способны поглощать глицин-бетаин, а также пролин из внешней среды. Показано, что присутствие глицин-бетаина во внешней среде при высокой концентрации NaCl не только усиливает рост *V. cholerae*, но и способность к формированию биопленки, что в итоге защищает бактериальную популяцию от осмотического стресса. Перенос глицин-бетаина и пролина из внешней среды в клетку у возбудителя холеры осуществляется соответственно при участии двух белков-транспортеров — OpuD и PutP [57].

Несмотря на важную роль осмопротекторов в выживании *V. cholerae*, механизм их продукции в ответ на повышение осмолярности среды до конца не изучен. Показана важная роль транскрипционного регулятора CosR (compatible solute regulator). Биосинтез белка CosR, относящегося к регуляторам типа Mar (multiple antibiotic resistance), кодируется геном *cosR*, расположенным на большой хромосоме, и увеличивается при повышении концентрации как NaCl, так и KCl. Образующийся белок CosR репрессирует транскрипцию генов, вовлеченных в биосинтез и транспорт осмопротекторов [58]. В условиях повышенной концентрации хлорида натрия CosR активирует процесс формирования биопленки, но ингибирует экспрессию генов, ответственных за подвижность, независимо от его функции в качестве регулятора эктоина (рис. 2). Высказывается предположение, что белок CosR играет важную роль в выживании возбудителя холеры как во внешней среде, так и в организме человека [58].

В условиях низкого содержания NaCl повышается активность другого регулятора — OscR (osmolarity controlled regulator), относящегося к семейству IclR (isocitrate lyase) — транскрипционных регуляторов, присутствующих у различных грамотрицательных и грамположительных бактерий [9, 58]. OscR оказывает положительное влия-

ние на подвижность, но репрессирует формирование биопленки, подавляя транскрипцию генов *vps*, ответственных за продукцию экзополисахарида (см. рис. 2). Данный регулятор активирует и/или ингибирует биосинтез белков, содержащих GAF-домен, который связывается с ионами натрия и циклическими нуклеотидами [59]. Итак, в зависимости от концентрации хлорида натрия во внешней среде в клетках токсигенных штаммов *V. cholerae* координированно изменяется экспрессия различных генов при участии двух транскрипционных регуляторов — CosR и OscR.

Таким образом, приведенные в обзоре данные показывают, что изменение осмолярности, создаваемой разной концентрацией хлорида натрия, наряду с другими факторами оказывает влияние на выживаемость возбудителя холеры и численность популяции при его нахождении как в макроорганизме, так и во внешней среде. При этом возбудитель холеры выработал механизмы, способствующие его устойчивости к условиям различной осмолярности. Возможно, в результате адаптации к солевому стрессу у штаммов *V. cholerae* появляются новые свойства и более высокая устойчивость к другим неблагоприятным воздействиям внешней среды. В связи с этим исследования влияния хлорида натрия на физиологию этого возбудителя необходимы для понимания механизмов его экологической устойчивости и возможности вызывать вспышки инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Арешина О.А., Назаретян А.А., Кругликов В.Д. и др. Характеристика эпидемиологической обстановки по холере в мире (2003—2012 гг.) и прогноз на 2013 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; (1): 11—7.
2. Титова С.В., Москвитина Э.А., Кругликов В.Д., Самородова А.В., Тюленева Е.Г., Монахова Е.В. и др. Оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2006—2015 гг. Прогноз на 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; (1): 20—7.
3. Huq A., West P.A., Small E.B., Huq M.I., Colwell R.R. Influence of water temperature, salinity, and pH on survival and growth of toxigenic *Vibrio cholerae* serovar O1 associated with live copepods in laboratory microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 1984; 48: 420—4.
4. Colwell R.R. Global climate and infectious disease: the cholera paradigm. *Science*. 1996; 274: 2025—31.
5. Brown I.I., Sirenko L.A. The role of the sodium cycle of energy coupling in the emergence and persistence of natural foci of modern cholera. *Biochemistry*. 1997; 62: 225—30.
6. Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanism of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013; 4(00375): 1—15. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375
7. Islam M.S., Islam M.S., Mahmud Z.H., Caimcross S., Clemens J.D., Collins A.E. Role phytoplankton in maintaining endemicity and seasonality of cholera in Bangladesh. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015; 109(9): 572—8. DOI: 10.1093/trstmh/trv057
8. Singleton F.L., Attwell R.W., Jangi M.S., Colwell R.R. Influence of salinity and organic nutrient concentration on survival and growth of *Vibrio cholerae* in aquatic microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 1982; 43: 1080—5.
9. Shikuma N.J., Yildiz F.H. Identification and characterization of OsrR, a transcriptional regulator involved in osmolarity adaptation in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2009; 191: 4082—96. DOI: 10.1128/JB.01540-08
10. Colwell R.R., Huq A. Environmental reservoir of *Vibrio cholerae*. The causative agent of cholera. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1994; 740: 44—

54. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1994.tb19852.x
11. McCarthy S.A. Effects of temperature and salinity on survival of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 in seawater. *Microbiol. Ecol.* 1996; 31(2): 167—75. DOI: 10.1007/BF00167862
12. Pascual M., Bouma M.J., Dobson A.P. Cholera and climate: revisiting the quantitative evidence. *Microb. Infect.* 2002; 4: 237—45. DOI: 10.1016/S1286-4579(01)01533-7
13. Collins A.E. Vulnerability to coastal ecology. *Soc. Sci. Med.* 2003; 57: 1397—407. DOI: 10.1016/S0277-9636(02)00519-1
14. Colwell R.R. Infectious disease and environment: cholera as a paradigm for waterborne disease. *Intern. Microbiol.* 2004; 7: 285—9.
15. Huq A., Sack R.B., Nizam A., Longini I.M., Nair G.B., Ali A. et al. Critical factors influencing the occurrence of *Vibrio cholerae* in the environment of Bangladesh. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005; 71: 4645—54. DOI: 10.1128/AEM.71.8.4645-4654.2005
16. Lobitz B., Beck L., Hug A., Wood B., Fuchs G., Faruque A.S.G. et al. Climate and infectious disease: use of remote sensing for detection of *Vibrio cholerae* by indirect measurement. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000; 97: 1438—43.
17. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Арешина О.А., Кругликов В.Д., Безмертвый В.Е. и др. Аналитические данные о выделении холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп из поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды на административных территориях России, различных по типам эпидемических проявлений холеры. В кн.: «Холера и патогенные для человека вибрионы»: Материалы Совещания специалистов Роспотребнадзора 5—6 июня 2013 г. Ростов-н/Д: Дониздат; 2013; 26: 26—34.
18. Gupta S., Chowdhury R. Bile affects production of virulence factors and motility of *Vibrio cholerae*. *Infect. and Immun.* 1997; 65: 1131—4.
19. Mahalanabis D., Watten R., Wallace C. Clinical aspects and management of pediatric cholera. In: Barua D. and Burrows W. (Eds.). *Cholera*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1974: 221—33.
20. Häse C.C., Mekalanos J.J. Effects of changes in membrane sodium flux on virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999; 96: 3183—7.
21. Häse C.C., Barquera B. Role of sodium bioenergetics in *Vibrio cholerae*. *Biochim. Biophys. Acta.* 2001; 1505: 169—78. DOI: 10.1016/S0005-2728(00)00286-3
22. Miller C.J., Drasar B.S., Feachem R.G. Response of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 to physico-chemical stresses in aquatic environments. *J. Hyg. (Lond.)* 1984; 93: 475—95.
23. Odić D., Turk V., Stopar D. Environmental stress determines quality of bacterial lysate and its utilization efficiency in a simple microbial loop. *Microbiol. Ecol.* 2007; 53: 639—64. DOI: 10.1007/s00248-006-9143-8
24. Vimont S., Berche P. NhaA, an Na⁺/H⁺ antiporter involved in environmental survival of *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2000; 182: 2937—44.
25. Pflughoeft K.J., Kiersek K., Watnick P.I. Role of ectoine in *Vibrio cholerae* osmoadaptation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69: 5919—27. DOI: 10.1128/AEM.69.10.5919-5927.2003
26. Wood J.M., Bremer E., Csonka L.N., Kraemer R., Poolman B., van der Heide T. et al. Osmosensing and osmoregulatory compatible solute accumulation by bacteria. *Comp. Biochem. Physiol. Pt A: Mol. Integr. Physiol.* 2001; 130: 437—60. DOI: 10.1016/S1095-6433-(01)00442-1
27. Hengge-Aronis R. Recent insights into the general stress response regulatory network in *Escherichia coli*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2002; 4: 341—6.
28. Wood J.M. Bacterial osmoregulation: a paradigm for the study of cellular homeostasis. *Annu. Rev. Microbiol.* 2011; 65: 215—38. DOI: 10.1146/annurev-micro-090110-102815
29. Wargo M.J. Choline catabolism to glycine betaine contributes to *Pseudomonas aeruginosa* survival during murine lung infection. *PLoS One.* 2013; 8: e56850. DOI: 10.1371/journal.pone.0056850
30. Современная микробиология. Прокариоты / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Дресса, Г. Шлегеля. М.: Мир; 2005; т. 1—2.
31. Sleator R.D., Hill C. Bacterial osmoadaptation: the role of osmolytes in bacterial stress and virulence. *FEMS Microbiol. Rev.* 2002; 26: 49—71. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00598.x
32. He Z., Zhou A., Baidoo E., He Q., Joachimiak M.P., Benke P. et al. Global transcriptional, physiological, and metabolite analyses of the responses of *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough to salt adaptation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76: 1574—86. DOI: 10.1128/AEM.02141-09
33. Селиванова Е.А. Механизмы выживания микроорганизмов в гиперосмотических условиях. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН.* 2012; 3: 1—10. (электронный журнал, http://www.elmag.uran.ru, дата обращения 5.04.2016).
34. Altendorf K., Booth I.R., Gralla J.D., Greie J.C., Rosenthal A.Z., Wood J.M. Osmotic stress. *EcoSal Plus.* 2013; 1—41. DOI: 10.1128/ecosalplus.5.4.5
35. Igarashi K., Kashiwagi K. Polyamines: mysterious modulators of cellular functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 271: 559—64. DOI: 10.1006/bbrc.2000.2601
36. Lequette Y., Rollet E., Delangle A., Greenberg E.P., Bohin J.P. Linear osmoregulated periplasmic glucans are encoded by the *opgGH* locus of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology.* 2007; 153: 3255—63. DOI: 10.1099/mic.0.2007/008953-0
37. Cayley D.S., Guttman H.J., Record M.T. Biophysical characterization of changes in amounts and activity of *Escherichia coli* cell and compartment water and turgor pressure in response to osmotic stress. *Biophys. J.* 2000; 78: 1748—64.
38. Faruque S.M., Biswas K., Udden S.M., Ahmad Q.S., Sack D.A., Nair G.B. et al. Transmissibility of cholera: in vivo-formed biofilms and their relationship to infectivity and persistence in the environment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103: 6350—5. DOI: 10.1073/pnas.0601277103
39. Teschler J.K., Zamorano-Sánchez D., Utada A.S., Warner C.J.A., Wong G.C.L., Lington R.G. et al. Living in the matrix: assembly and control of *Vibrio cholerae* biofilms. *Microbiol.* 2015; 13: 255—68. DOI: 10.1038/nmicro3433
40. Jubelin G., Vianney A., Beloin C., Ghigo J.M., Lazzaroni J.C., Lejeune P. et al. CpxR/OmpR interplay regulates curli gene expression in response to osmolarity in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 2005; 187: 2038—49. DOI: 10.1128/JB.187.6.2038-2049.2005
41. Coyne V.E., al-Harhi L. Induction of melanin biosynthesis in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1992; 58: 2861—5.
42. Chakrabarti A.K., Chaudhuri K., Sen K., Das J. Porins of *Vibrio cholerae*: purification and characterization of OmpU. *J. Bacteriol.* 1996; 17: 524—30.
43. Cai S.J., Inouye M. EnvZ-OmpR interaction and osmoregulation in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 24155—61. DOI: 10.1074/jbc.M110715200
44. Hernandez-Alles S., Alberti S., Alvarez D., Domenech-Sanchez A., Martinez-Martinez L., Gil J. et al. Porin expression in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiology.* 1999; 145: 673—9. DOI: 10.1099/13500872-145-3-673
45. Xu C., Ren H., Wang S., Peng X. Proteomic analysis of salt-sensitive outer membrane proteins of *Vibrio parahaemolyticus*. *Res. Microbiol.* 2004; 155: 835—42. DOI: 10.1016/j.resmic.2004.07.001
46. Xu C., Wang S., Ren H., Lin X., Wu L., Peng X. Proteomic analysis on the expression of outer membrane proteins of *Vibrio alginolyticus* at different sodium concentrations. *Proteomics.* 2005; 5: 3142—52. DOI: 10.1002/pmic.200401128
47. Fu X., Liang W., Du P., Yan M., Kan B. Transcript changes in *Vibrio cholerae* in response to salt stress. *Gut Pathogens.* 2014; 6: 1—6. DOI: 10.1186/s13099-014-0047-8
48. Hosseinkhan N., Zarrineh P., Rokni-Zadeh H., Ashouri M.R., Masoudi-Nejad A. Co-expressional conservation in virulence and stress related genes of three Gamma Proteobacterial species: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. BioSyst.* 2015; 11(11): 3137—48. DOI: 10.1039/C5MB00353A
49. Cebrian G., Arroyo C., Condon S., Manas P. Osmotolerance provided by the alternative sigma factors s^B and rpoS to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* is solute dependent and does not result in an increased growth fitness in NaCl containing media. *Int. J. Food Microbiol.* 2015; 214: 83—90. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.011
50. Schlosser A., Meldorf M., Stumpe S., Bakker E.P., Epstein W. TrkH and its homolog. TrkG, determine the specificity and kinetics of cation transport by the Trk system of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 1995; 177: 1908—10.
51. Sleator R.D., Hill C. Bacterial osmoadaptation: the role of osmolytes in bacterial stress and virulence. *FEMS Microbiol. Rev.* 2002; 26: 49—71. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00598.x
52. Sato Y., Nanatani K., Hamamoto S., Shimizu M., Takahashi M., Tabuchi-Kobayashi M. et al. Defining membrane spanning domains

- and crucial membrane-localized acidic amino acid residues for K⁺ transport of a Kup/HAK/KT-type *Escherichia coli* potassium transporter. *J. Biochem.* 2014; 155: 315—23. DOI: 10.1093/jb/mvu007
53. Harms C., Domoto Y., Celik C., Rahe E., Stumpe S., Schmid R. et al. Identification of the ABC protein SapD as the subunit that confers ATP dependence to the K⁺-uptake systems TrkH and TrkG from *Escherichia coli* K-12. *Microbiology.* 2001; 147: 2991—3003. DOI: 10.1099/00221287-147-11-2991
 54. Greie J.C., Altendorf K. The K⁺-translocating KdpFABC complex from *Escherichia coli*: A P-type ATPase with unique features. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2007; 39: 397—402. DOI: 10.1007/s10863-007-9111-0
 55. Trchounian A., Kobayashi H. Kup is the major K⁺ uptake system in *Escherichia coli* upon hyper-osmotic stress at low pH. *FEBS Lett.* 1999; 447: 144—8. DOI: 10.1016/S0014-5793(99)00288-4
 56. Widderich N., Kobus S., Höppner A., Riclea R., Seubert A., Dick-schat J.S. et al. Biochemistry and crystal structure of ectoine synthase: a metal-containing member of the cupin superfamily. *PLoS One.* 2016; 11(3): e0151285. DOI: 10.1371/journal.pone.0151285
 57. Kapfhammer D., Karatan E., Pflughoeft K.J., Watnick P.I. Role for glycine betaine transport in *Vibrio cholerae* osmoadaptation and biofilm formation within microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005; 74: 3840—7. DOI: 10.1128/AEM.71.7.3840-3847.2005
 58. Shikuma N.J., Davis K.R., Fong J.N.C., Yildiz F.H. The transcriptional regulator, CosR, controls compatible solute biosynthesis and transport, motility and biofilm formation in *Vibrio cholerae*. *Environ. Microbiol.* 2013; 15: 1387—99. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2012.02805.x
 59. Dunlap P.V. OsrC, a new osmolarity-responsive regulator in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2009; 191: 4053—5. DOI: 10.1128/JB.00501-09
- iting the quantitative evidence. *Microb. Infect.* 2002; 4: 237—45. DOI: 10.1016/S1286-4579(01)01533-7
13. Collins A.E. Vulnerability to coastal ecology. *Soc. Sci. Med.* 2003; 57: 1397—407. DOI: 10.1016/S0277-9636(02)00519-1
 14. Colwell R.R. Infectious disease and environment: cholera as a paradigm for waterborne disease. *Intern. Microbiol.* 2004; 7: 285—9.
 15. Huq A., Sack R.B., Nizam A., Longini I.M., Nair G.B., Ali A. et al. Critical factors influencing the occurrence of *Vibrio cholerae* in the environment of Bangladesh. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005; 71: 4645—54. DOI: 10.1128/AEM.71.8.4645-4654.2005
 16. Lobitz B., Beck L., Hug A., Wood B., Fuchs G., Faruque A.S.G. et al. Climate and infectious disease: use of remote sensing for detection of *Vibrio cholerae* by indirect measurement. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000; 97: 1438—43.
 17. Moskvitina E.A., Mazrukho A.B., Adamenko O.L., Areshina O.A., Kruglikov V.D., Bezsmertnyy V.E. et al. Analytical data on the allocation of *V. cholerae* O1 serogroups and O139 from surface water and other environmental objects at the administrative territories of Russia, various types of epidemic manifestations of cholera. In: *Cholera and Pathogens for Human Vibrios: Proceedings of the Meeting of Specialists of Rospotrebnadzor. 5—6 June 2013. Rostov n/D: Donizdat; 2013; 26: 26—34. (in Russian)*
 18. Gupta S., Chowdhury R. Bile affects production of virulence factors and motility of *Vibrio cholerae*. *Infect. and Immun.* 1997; 65: 1131—4.
 19. Mahalanabis D., Watten R., Wallace C. Clinical aspects and management of pediatric cholera. In: Barua D. and Burrows W. (Eds.). *Cholera*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1974: 221—33.
 20. Häse C.C., Mekalanos J.J. Effects of changes in membrane sodium flux on virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999; 96: 3183—7.
 21. Häse C.C., Barquera B. Role of sodium bioenergetics in *Vibrio cholerae*. *Biochim. Biophys. Acta.* 2001; 1505: 169—78. DOI: 10.1016/S0005-2728(00)00286-3
 22. Miller C.J., Drasar B.S., Feachem R.G. Response of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 to physico-chemical stresses in aquatic environments. *J. Hyg. (Lond.)* 1984; 93: 475—95.
 23. Odić D., Turk V., Stopar D. Environmental stress determines quality of bacterial lysate and its utilization efficiency in a simple microbial loop. *Microbiol. Ecol.* 2007; 53: 639—64. DOI: 10.1007/s00248-006-9143-8
 24. Vimont S., Berche P. NhaA, an Na⁺/H⁺ antiporter involved in environmental survival of *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2000; 182: 2937—44.
 25. Pflughoeft K.J., Kierek K., Watnick P.I. Role of ectoine in *Vibrio cholerae* osmoadaptation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69: 5919—27. DOI: 10.1128/AEM.69.10.5919-5927.2003
 26. Wood J.M., Bremer E., Csonka L.N., Kraemer R., Poolman B., van der Heide T. et al. Osmosensing and osmoregulatory compatible solute accumulation by bacteria. *Comp. Biochem. Physiol. Pt A: Mol. Integr. Physiol.* 2001; 130: 437—60. DOI: 10.1016/S1095-6433-(01)00442-1
 27. Hengge-Aronis R. Recent insights into the general stress response regulatory network in *Escherichia coli*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2002; 4: 341—6.
 28. Wood J.M. Bacterial osmoregulation: a paradigm for the study of cellular homeostasis. *Annu. Rev. Microbiol.* 2011; 65: 215—38. DOI: 10.1146/annurev-micro-090110-102815
 29. Wargo M.J. Choline catabolism to glycine betaine contributes to *Pseudomonas aeruginosa* survival during murine lung infection. *PLoS One.* 2013; 8: e56850. DOI: 10.1371/journal.pone.0056850
 30. *Modern Microbiology. Prokaryotes* / Eds. Y. Lengeler, G. Drevs, G. Shlegel. Moscow: Peace; 2005; Vol. 1—2. (in Russian)
 31. Sleator R.D., Hill C. Bacterial osmoadaptation: the role of osmolytes in bacterial stress and virulence. *FEMS Microbiol. Rev.* 2002; 26: 49—71. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00598.x>
 32. He Z., Zhou A., Baidoo E., He Q., Joachimiak M.P., Benke P. et al. Global transcriptional, physiological, and metabolite analyses of the responses of *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough to salt adaptation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76: 1574—86. DOI: 10.1128/AEM.02141-09
 33. Selivanova E.A. The survival mechanisms of microorganisms in hyperosmotic conditions. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra URO RAN.* 2012; 3: 1—10. (electronic journal, <http://www.elmag.uran.ru>, accessed 5.04.2016). (in Russian)

34. Altendorf K., Booth I.R., Gralla J.D., Greie J.C., Rosenthal A.Z., Wood J.M. Osmotic stress. *EcoSal Plus*. 2013; 1—41. DOI:10.1128/ecosalplus.5.4.5
35. Igarashi K., Kashiwagi K. Polyamines: mysterious modulators of cellular functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000; 271: 559—64. DOI: 10.1006/bbrc.2000.2601
36. Lequette Y., Rollet E., Delangle A., Greenberg E.P., Bohin J.P. Linear osmoregulated periplasmic glucans are encoded by the *opgGH* locus of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiology*. 2007; 153: 3255—63. DOI: 10.1099/mic.0.2007/008953-0
37. Cayley D.S., Guttman H.J., Record M.T. Biophysical characterization of changes in amounts and activity of *Escherichia coli* cell and compartment water and turgor pressure in response to osmotic stress. *Biophys. J.* 2000; 78: 1748—64.
38. Faruque S.M., Biswas K., Udden S.M., Ahmad Q.S., Sack D.A., Nair G.B. et al. Transmissibility of cholera: in vivo-formed biofilms and their relationship to infectivity and persistence in the environment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103: 6350—5. DOI: 10.1073/pnas.0601277103
39. Teschler J.K., Zamorano-Sánchez D., Utada A.S., Warner C.J.A., Wong G.C.L., Linington R.G. et al. Living in the matrix: assembly and control of *Vibrio cholerae* biofilms. *Microbiol.* 2015; 13: 255—68. DOI: 10.1038/nmicro3433
40. Jubelin G., Vianney A., Beloin C., Ghigo J.M., Lazzaroni J.C., Lejeune P. et al. CpxR/OmpR interplay regulates curli gene expression in response to osmolarity in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 2005; 187: 2038—49. DOI: 10.1128/JB.187.6.2038-2049.2005
41. Coyne V.E., al-Harhi L. Induction of melanin biosynthesis in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1992; 58: 2861—5.
42. Chakrabarti A.K., Chaudhuri K., Sen K., Das J. Porins of *Vibrio cholerae*: purification and characterization of OmpU. *J. Bacteriol.* 1996; 17: 524—30.
43. Cai S.J., Inouye M. EnvZ-OmpR interaction and osmoregulation in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 24155—61. DOI: 10.1074/jbc.M110715200
44. Hernandez-Alles S., Alberti S., Alvarez D., Domenech-Sanchez A., Martinez-Martinez L., Gil J. et al. Porin expression in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Microbiology*. 1999; 145: 673—9. DOI: 10.1099/13500872-145-3-673
45. Xu C., Ren H., Wang S., Peng X. Proteomic analysis of salt-sensitive outer membrane proteins of *Vibrio parahaemolyticus*. *Res. Microbiol.* 2004; 155: 835—42. DOI: 10.1016/j.resmic.2004.07.001
46. Xu C., Wang S., Ren H., Lin X., Wu L., Peng X. Proteomic analysis on the expression of outer membrane proteins of *Vibrio alginolyticus* at different sodium concentrations. *Proteomics*. 2005; 5: 3142—52. DOI: 10.1002/pmic.200401128
47. Fu X., Liang W., Du P., Yan M., Kan B. Transcript changes in *Vibrio cholerae* in response to salt stress. *Gut Pathogens*. 2014; 6: 1—6. DOI:10.1186/s13099-014-0047-8
48. Hosseinkhan N., Zarrineh P., Rokni-Zadeh H., Ashouri M.R., Masoudi-Nejad A. Co-expressional conservation in virulence and stress related genes of three Gamma Proteobacterial species: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. BioSyst.* 2015; 11(11): 3137—48. DOI: 10.1039/C5MB00353A
49. Cebrian G., Arroyo C., Condon S., Manas P. Osmotolerance provided by the alternative sigma factors σ^B and *rpoS* to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* is solute dependent and does not result in an increased growth fitness in NaCl containing media. *Int. J. Food Microbiol.* 2015; 214: 83—90. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.011
50. Schlosser A., Meldorf M., Stumpe S., Bakker E.P., Epstein W. TrkH and its homolog. TrkG, determine the specificity and kinetics of cation transport by the Trk system of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 1995; 177: 1908—10.
51. Sleator R.D., Hill C. Bacterial osmoadaptation: the role of osmolytes in bacterial stress and virulence. *FEMS Microbiol. Rev.* 2002; 26: 49—71. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00598.x>
52. Sato Y., Nanatani K., Hamamoto S., Shimizu M., Takahashi M., Tabuchi-Kobayashi M. et al. Defining membrane spanning domains and crucial membrane-localized acidic amino acid residues for K⁺ transport of a Kup/HAK/KT-type *Escherichia coli* potassium transporter. *J. Biochem.* 2014; 155: 315—23. DOI: 10.1093/jb/mvu007
53. Harms C., Domoto Y., Celik C., Rahe E., Stumpe S., Schmid R. et al. Identification of the ABC protein SapD as the subunit that confers ATP dependence to the K⁺-uptake systems TrkH and TrkG from *Escherichia coli* K-12. *Microbiology*. 2001; 147: 2991—3003. DOI: 10.1099/00221287-147-11-2991
54. Greie J.C., Altendorf K. The K⁺-translocating KdpFABC complex from *Escherichia coli*: A P-type ATPase with unique features. *J. Bioenerg. Biomembr.* 2007; 39: 397—402. DOI: 10.1007/s10863-007-9111-0
55. Trchounian A., Kobayashi H. Kup is the major K⁺ uptake system in *Escherichia coli* upon hyper-osmotic stress at low pH. *FEBS Lett.* 1999; 447: 144—8. DOI: 10.1016/S0014-5793(99)00288-4
56. Widderich N., Kobus S., Höppner A., Riclea R., Seubert A., Dick-schat J.S. et al. Biochemistry and crystal structure of ectoine synthase: a metal-containing member of the cupin superfamily. *PLoS One*. 2016; 11(3): e0151285. DOI: 10.1371/journal.pone.0151285
57. Kapfhammer D., Karatan E., Pflughoeft K.J., Watnick P.I. Role for glycine betaine transport in *Vibrio cholerae* osmoadaptation and biofilm formation within microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005; 74: 3840—7. DOI: 10.1128/AEM.71.7.3840-3847.2005
58. Shikuma N.J., Davis K.R., Fong J.N.C., Yildiz F.H. The transcriptional regulator, CosR, controls compatible solute biosynthesis and transport, motility and biofilm formation in *Vibrio cholerae*. *Environ. Microbiol.* 2013; 15: 1387—99. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2012.02805.x
59. Dunlap P.V. OsrR, a new osmolarity-responsive regulator in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2009; 191: 4053—5. DOI: 10.1128/JB.00501-09

Поступила 17.03.2016

Сведения об авторах:

Заднова Светлана Петровна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патогенных вибрионов ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»; **Плеханов Никита Александрович**, мл. науч. сотр. лаб. патогенных вибрионов ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»; **Смирнова нина Ивановна**, доктор биол. наук, проф., зав. лаб. патогенных вибрионов ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», e-mail: rustapi@microbe.ru