

Е.В.Монахова

СТРАТЕГИЯ ВИРУЛЕНТНОСТИ ХОЛЕРНЫХ ВИБРИОНОВ И ПУТИ ЕЕ РЕАЛИЗАЦИИ (ОБЗОР)

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

В обзоре рассматриваются основные пути реализации холерными вибрионами стратегии вирулентности за счет приобретения и экспрессии генов различных токсических субстанций, а также молекулярные механизмы их взаимодействия с организмом хозяина, обмена генетической информацией, накопления и утраты детерминант факторов, неидентичных структурно, но сходных функционально. На основе анализа литературных и собственных данных предложена концепция о взаимозаменяемости факторов патогенности, которая позволяет штаммам, лишенным генов холерного токсина, восстанавливать и поддерживать патогенетический потенциал возбудителей острых диарейных заболеваний.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, токсины, эффекторы, системы секреции, факторы колонизации, бактериофаги.

E.V.Monakhova

Cholera Vibrio Virulence Strategy and Ways of its Realization (Scientific Review)

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

The basic ways of *Vibrio cholerae* virulence strategy realization through acquisition and expression of genes of various toxic substances are discussed. Considered are molecular mechanisms responsible for interaction between host organism and cholera vibrios, as well as for genetic information exchange, for accumulation and loss of determinants of factors, which are non-identical structurally but functionally similar. Based on the analysis of literature data and personal observations put forward is a conception of pathogenicity factor intersubstitutability allowing for restoration and maintenance of pathogenetic potential of severe diarrheal disease agents among the strains deprived of cholera toxin genes.

Key words: *Vibrio cholerae*, toxins, effectors, secretion systems, colonization factors, bacteriophages.

Холерные вибрионы биовара эльтор отличаются повышенной изменчивостью по сравнению со своими классическими предшественниками, очевидно, обусловленной крайней пластичностью их генома. На протяжении седьмой пандемии холеры отмечено формирование новых клонов с различными, часто уникальными сочетаниями генов, связанных с проявлением вирулентности. При этом наряду с появлением возбудителей холеры, обладающих более мощным эпидемическим потенциалом [9, 19], наблюдается возникновение высоковирулентных штаммов, лишенных генов холерного токсина (СТ), но экспрессирующих гены дополнительных факторов патогенности. Такие штаммы встречаются среди представителей как O1, так и неO1/неO139 серогрупп [5, 20, 28, 41]. На сегодняшний день у холерных вибрионов выявлен целый ряд токсических субстанций, и полидетерминантный характер патогенности вида *Vibrio cholerae* уже не вызывает сомнений. В настоящем обзоре рассматриваются основные способы поддержания возбудителем патогенетического потенциала за счет приобретения и экспрессии тех или иных генов, а также способы его взаимодействия с организмом хозяина.

Факторы патогенности холерных вибрионов и их взаимозаменяемость. Сравнительный анализ механизмов действия различных токсических субстанций показал, что вирулентность *V. cholerae* может определяться продукцией целого ряда фак-

торов, которые неидентичны структурно, но сходны функционально, т.е. используют несколько путей для достижения одного и того же результата – развития острого диарейного синдрома. Эти взаимозаменяемые факторы можно разделить на следующие основные группы.

Токсины, повышающие уровни циклических нуклеозидмонофосфатов. Как известно, основным фактором патогенности СТ представляет собой классический пример АВ-токсина, состоящий из одной А- и пяти В-субъединиц с молекулярными массами (ММ) 29,4 и 14 кДа соответственно. В-субъединицы адсорбируются на специфическом рецепторе – моноганглиозиде GM₁, образуя канал, через который процессированная А-субъединица (А1, ММ 25 кДа) поступает в цитоплазму клетки хозяина и осуществляет АДФ-рибозилирование α-субъединицы специфического белка Gs, которое приводит к ингибированию свойственной ему ГТФазной активности. В результате происходит конститутивная активация аденилатциклазы (АС), локализованной в базолатеральной мембране энтероцита. Повышение уровня цАМФ является ключевым звеном в развитии типичной клинической картины холеры [42]. Однако вполне вероятно, что СТ не единственный активатор АС, которым обладают холерные вибрионы. Другим «претендентом» на эту роль является описанный группой индийских авторов [48] novel toxin, или токсин WO7 (по названию клинического нехолеро-

генного штамма *V. cholerae* O1, из которого он был выделен). Он также обладает субъединичной структурой, но его субъединицы отличаются от таковых СТ как по ММ (58 и 40 кДа), так и по N-концевым последовательностям. WO7 вызывает удлинение клеток СНО и накопление жидкости в изолированных петлях кишечника кролика, превосходя СТ по активности в 10 раз. Это сопровождается повышением уровней цАМФ и протеинкиназы А (РКА) [12, 48]. Наибольший интерес представляет способность WO7 связываться с GM_1 , т.е. последний, вероятно, может служить ему рецептором. Точный механизм действия WO7 не установлен, как и способ проникновения в клетку хозяина. Авторы предполагают, что он взаимодействует с мембранным гликопротеином (MP) и каким-то образом (возможно, через G-белки) активирует фосфолипазу $C\gamma$ (PLC γ), которая гидролизует фосфатидил-инозит-дифосфат (PIP2) с образованием инозитолтрифосфата (IP $_3$) и диацилглицерина (DAG). IP $_3$ мобилизует Ca^{2+} из внутриклеточных запасов, а DAG активирует протеинкиназу С (РКС), которая наряду с фосфорилированием белков осуществляет индукцию АС [12].

Кроме цАМФ, нарушение секреции в кишечнике может обуславливать и цГМФ. Альтернативным способом вызывать быстрое развитие тяжелой диареи является способность некоторых штаммов к продукции другого, термостабильного, токсина (ST) – активатора корпускулярной гуанилатциклазы (GC-C). ST представляет собой короткий пептид из 17 аминокислотных остатков с ММ 1,8 кДа, образующийся в результате процессинга первичного продукта гена *stn/sto*. Он высоко гомологичен термостабильному токсину *E. coli* (Sta), поэтому детально изученный механизм действия последнего, по всей видимости, может рассматриваться как идентичный таковому ST *V. cholerae* [22]. ST служит лигандом, соединяющимся с внеклеточным рецепторным доменом трансмембранного гликопротеина GC-C, который «пронизывает» апикальную мембрану энтероцита щеточной каймы. Это событие приводит к конформационным изменениям молекулы GC-C, следствием которых является активация ее внутриклеточного каталитического домена, и уровень цГМФ в клетке резко повышается. В результате происходит активация цГМФ-зависимой протеинкиназы (РКС), фосфорилирующей белки.

Упрощенная схема нарушения водно-электролитного баланса в кишечнике тремя описанными токсинами представлена на рис. 1, из которого видно, как совершенно различные по структуре и начальным этапам биологического действия факторы в конечном итоге вызывают один и тот же эффект. Изложенное делает очевидным тот факт, что холерные вибрионы постепенно приобретают способность к продукции токсинов, представляющих собой более или менее адекватную замену СТ. В отличие от генов СТ (*ctxAB*), широко распространенных среди клинических штаммов *V. cholerae*, наличие гена

stn/sto и способность к его экспрессии характерна в основном для нехолерогенных вибрионов O1 и неO1/неO139 серогрупп, однако в литературе встречаются сообщения о штаммах, одновременно содержащих гены *stn/sto* и *ctxAB* [41, 44]. Довольно редкая встречаемость генов *stn/sto* может свидетельствовать о сравнительно недавнем их приобретении. Это предположение вытекает из факта, что ген фланкирован 123-нуклеотидными прямыми повторами VCR, которые входят в состав локализованного на малой хромосоме мегаинтегрона, ответственного за «захват» чужеродных генов. WO7 представляет особый случай. Несмотря на то, что с момента описания этого токсина прошло более 10 лет, на сегодняшний день он обнаружен всего у одного штамма, и распространение его среди представителей *V. cholerae* неизвестно. Его генетические детерминанты до сих пор не идентифицированы, и определенные авторами 15N-концевые последовательности обеих субъединиц не имеют гомологов среди белков, представленных в базах GenBank, за исключением единственного найденного нами существенного совпадения для N-конца 58 кДа-субъединицы с белком наружной мембраны OmpU *V. cholerae* (P97085). Однако OmpU имеет намного меньшую ММ (34,65 кДа), относится к классу поринов, связан с клеткой, известен как фактор колонизации/персистенции [16], и для него не описаны свойства, характерные для WO7, кроме способности агглютинировать эритроциты кролика, но эта гемагглютинация, в отличие от обусловленной WO7, ингибируется моносахарами. Во всех работах, посвященных этому токсину, по-прежнему упоминается только один штамм-продуцент *V. cholerae* WO7, и говорится о том, что он был выделен от больного с тяжелым холероподобным заболеванием во время

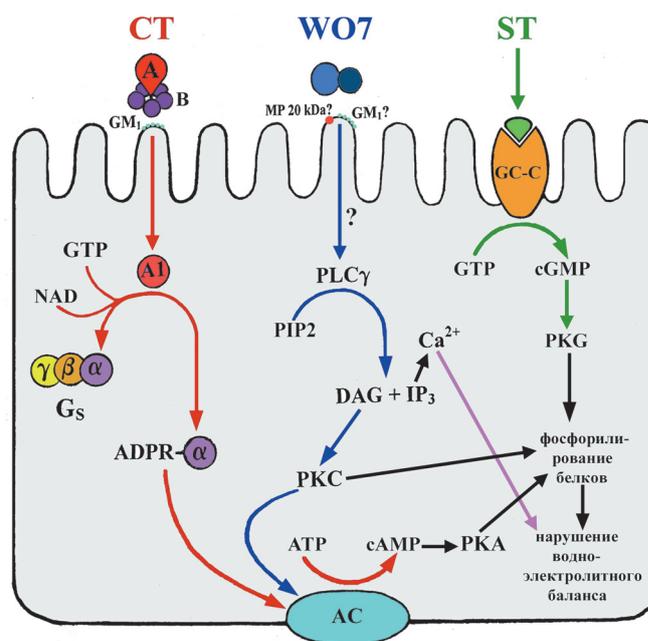


Рис. 1. Пути повышения уровней циклических нуклеозидмонофосфатов тремя различными по структуре токсинами холерных вибрионов (пояснения в тексте)

крупной вспышки холеры в Южной Индии, но носила ли эта вспышка клональный характер, не указано. Поэтому на данном этапе ответить на вопрос о том, является ли WO7 действительно уникальным и совсем недавним, не успевшим распространиться «приобретением» холерных вибрионов, не представляется возможным. И все же, по мнению авторов, WO7, несмотря на явное отличие от СТ, является его функциональным гомологом и одним из ключевых факторов в нарушении электролитного баланса и развития холероподобной симптоматики [12].

Порообразующие токсины. Картина, аналогичная описанной для активаторов АС и GC-C, наблюдается и среди токсинов-порообразователей. Самым известным и наиболее хорошо изученным из них является растворимый гемолизин/цитотоксин HlyA, ген которого видоспецифичен и экспрессируется, как правило, нехолерогенными штаммами вибрионов эльтор и многими штаммами неO1/неO139 серогрупп независимо от холерогенности. Образованные им поры в мембране представляют собой гомопентамеры [48], субъединицы которых могут быть представлены как первичным продуктом гена *hlyA* (pro-HlyA) с ММ 79 кДа, так и зрелым белком (ММ 65 кДа). Последний образуется в результате процессинга первого под действием гемагглютинин/протеазы (НА/Р) холерных вибрионов, трипсина и ряда других протеаз, что сопровождается резким повышением гемолитической и цитолитической активности [3, 47].

Низкомолекулярный (11,4 кДа) белок Ace (accessory cholera enterotoxin), ген которого входит в состав профагов СТХ и pre-СТХ [3, 13], сам по себе обладает свойствами ион-проницаемой поры [7]. Способность интегрировать в клеточную мембрану за счет наличия двух трансмембранных доменов объясняет его токсичность для клеток кишечника, выражающуюся в нарушении их ионного баланса.

Наконец, лишь у отдельных штаммов встречается ген термостабильного прямого гемолизина (TDH), ключевого фактора патогенности *V. parahaemolyticus* [5, 35]. Это белок с ММ 23 кДа, при порообразовании формирующий гомотетрамеры за счет дисульфидных связей. Поры имеют довольно крупные размеры, что, вероятно, объясняет низкий уровень ионной избирательности и позволяет воде и ионам проходить сквозь мембрану с наименьшим сопротивлением [50]. Ген и способность к продукции TDH-родственного гемолизина (TRH), обладающего такой же структурой и биологической активностью, пока была выявлена всего у одного штамма *V. cholerae* неO1/неO139 серогруппы [33].

Несмотря на структурные различия, все эти токсины способны повышать проницаемость мембраны, а в высоких дозах вызывают гибель клеток кишечника.

Модуляторы актина. Жизнеспособность эукариотических клеток во многом зависит от состояния их актинового цитоскелета. Для выполнения им множества функций (поддержание полярности и

подвижности клеток, цитокинез и эндоцитоз) необходимо сохранение динамического равновесия между G-актином (мономером) и F-актином (полимером). У холерных вибрионов имеется целый набор токсических субстанций, разными путями сдвигающих это равновесие в ту или другую сторону. Среди модуляторов актина отчетливо выделяются две подгруппы, различающиеся по характеру воздействия на клетки и ткани макроорганизма. К первой относятся токсины, разрушающие компоненты межклеточных контактов, что приводит к повышению в основном межклеточной проницаемости. Один из них, Zot (zonula occludens toxin), кодируемый геном в составе профагов СТХ и pre-СТХ, представляет собой белок с ММ 12 кДа, образующийся в результате процессинга исходного продукта гена *zot* (45 кДа) под действием специфических протеаз, синтезируемых холерными вибрионами (второй продукт этого процессинга с ММ 33 кДа не является токсином, а участвует в фаговом морфогенезе) [7]. В настоящее время 12 кДа форму Zot принято обозначать как ΔG [32]. Проникая в клетку и активируя фосфолипазу С, Zot запускает каскад событий, приводящих к полимеризации G-актина в F-актин (рис. 2, а). В результате происходит ослабление плотных контактов (tj, tight junctions), и поверхность клеток, доступная для адсорбции других белков, резко увеличивается [22]. Само по себе это явление не представляет собой опасности и, более того, в настоящее время интенсивно изучается с точки зрения использования ΔG, а вернее, его активного домена АТ1002, в качестве адъюванта для перорального применения лекарственных препаратов, которые обычно не всасываются в кишечнике (например, инсулина). Однако в присутствии других токсинов *V. cholerae* процесс принимает патологический характер, и при заражении экспериментальных животных на ультратонких срезах мы можем наблюдать отделение клеток кишечника друг от друга, от базальной мембраны и даже их слущивание (рис. 2, б) [2].

Другой модулятор актина, гемагглютинин/протеаза (НА/Р), белок с ММ 69,3 кДа (в зрелой форме 32 кДа), имеет иной механизм действия (рис. 2, в). Она расщепляет трансмембранный белок окклюдина на два фрагмента [49], в результате связанный с ним белок ZO1 теряет связь с цитоплазматической мембраной. Однако это не приводит к разрушению tj. Вместо этого как в культуре клеток кишечника, так и в кишечнике *in vivo* наблюдается расширение межклеточных промежутков ниже zonula occludens, вероятно, в области адгезивных контактов, а апикальные части клеток остаются соединенными (рис. 2 г, д). Возможно, это связано с сохранением внеклеточных доменов окклюдина [8] либо с другим компонентом плотных контактов – белками клаудинами, действие НА/Р на которые еще не изучалось. Жидкость накапливается большей частью в стенках кишечника, и развивается интерстициальный отек [1]. Следует отметить, что NMDCY (non-membrane-damaging

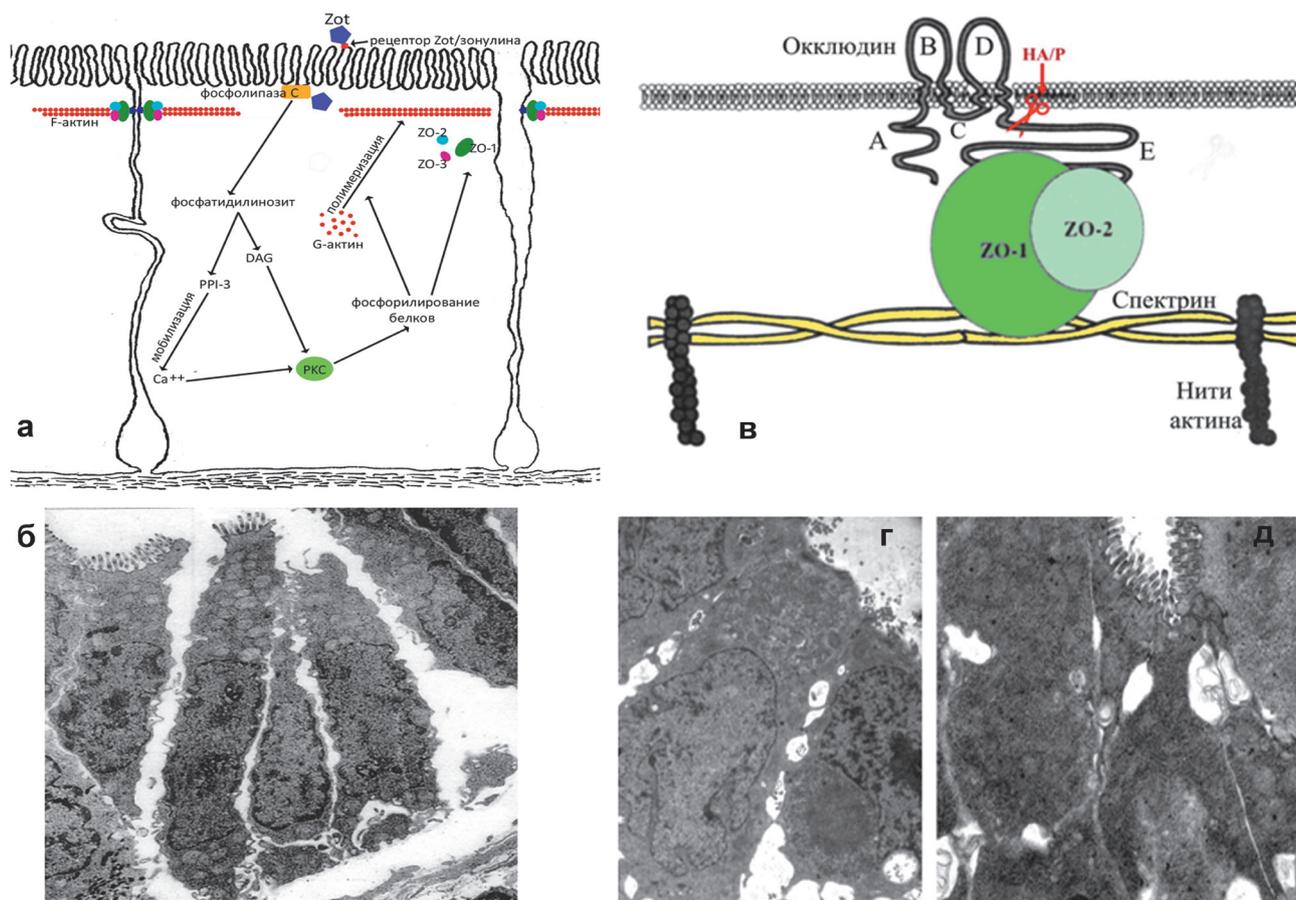


Рис. 2. Увеличение межклеточной проницаемости под действием токсинов холерных вибрионов – модуляторов актина: *a* – механизм разрушения t_j под действием Zot (схема); *б* – деструкция t_j и расхождение эпителиоцитов в кишечнике кролика-сосунка, зараженного штаммом холерного вибриона, содержащего гены Zot и других токсинов, $\times 2000$ [2]; *в* – механизм действия HA/P (схема); *г-д* – образование лакун между смежными эпителиоцитами при сохранении t_j соответственно в культуре клеток CaCo-2 ($\times 4200$) и в кишечнике мышей-сосунков ($\times 5000$) под действием HA/P [1, 8]

cytotoxin), ранее описанный как самостоятельный токсин [39], впоследствии оказался идентичным HA/P [3], и эти названия следует рассматривать как синонимы.

Вторая подгруппа актиномодуляторов включает факторы, воздействующие на сами эукариотические клетки. Вызываемые ими нарушения зачастую влекут за собой гибель клеток, в том числе макрофагов, что способствует беспрепятственному размножению вибрионов и колонизации кишечника (рис. 3). К ним относится, в частности, эффектор системы секреции третьего типа (T3SS) VopF либо его аналог VopN. После транслокации в клетку хозяина через комплекс иглы T3SS они вызывают нуклеацию актина – начальную стадию его полимеризации, и равновесие резко сдвигается в сторону F-актина [46]. Еще два фактора – MARTX (multifunctional autoprocessing repeats-in-toxin) [23] и эффектор системы секреции шестого типа (T6SS) VgrG1 [38], напротив, препятствуют полимеризации. Они кодируются совершенно разными генами, в составе разных кластеров, и используют разные системы секреции: MARTX транспортируется во внеклеточное пространство через атипичную систему 1-го типа, а затем про-

кает в клетку [23], тогда как VgrG1 транслоцируется через комплекс иглы T6SS, причем только после эндоцитоза вибрионов клеткой хозяина [29]. Вместе с тем они обладают структурно, функционально, а возможно, и филогенетически родственными актин-связывающими доменами (ACD) [23, 38]. Эти домены ковалентно связывают мономеры G-актина в конформации, несовместимой с полимеризацией, что вызывает необратимое нарушение актинового цитоскелета. Действие MARTX дополнительно усугубляется еще и тем, что он препятствует нормальной полимеризации G-актина в F-актин за счет активности другого домена – RID (Rho GTPase inactivation domain), который может оказывать токсический эффект и независимо от ACD [11].

Ингибиторы синтеза белка. Еще одним способом токсического действия является ингибирование синтеза белка в клетках хозяина. К таким ингибиторам относится шигаподобный токсин Slt1. Это типичный АВ-токсин, А-субъединица которого действует как N-гликозидаза, отщепляющая один остаток аденина от 28S-рРНК эукариотической рибосомы [42]. Он встречается у энтерогеморрагических штаммов кишечной палочки, а возможность присут-

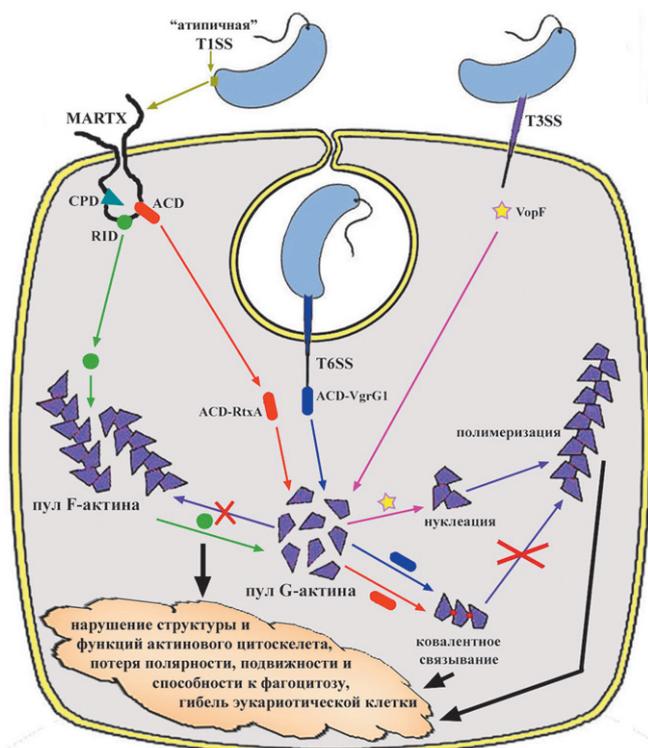


Рис. 3. Механизмы действия токсинов холерных вибрионов – модуляторов актина на эукариотические клетки (пояснения в тексте)

ствия его у холерных вибрионов сомнительна. Всего в одной публикации [36] сообщалось о способности *V. cholerae* к продукции токсина, иммунологически родственного SltI, но гены этого токсина у них до сих пор не были выявлены. С другой стороны, эти гены связаны с фагом [36, 42], а искусственно созданный вакцинный штамм *V. cholerae* оказался способным к экспрессии *sltB* [48]. Поэтому нельзя полностью исключить, что они могут быть приобретены холерными вибрионами, возможно, уже были приобретены какими-то единичными штаммами и еще не успели распространиться в популяции. В то же время у холерных вибрионов есть другой блокатор белкового синтеза. Это cholix-токсин, совершенно отличный от SltI по структуре и механизму действия. Обладая рибозилтрансферазной активностью, он модифицирует фактор элонгации 2 подобно дифтерийному токсину и экзотоксину А псевдомонад. Cholix-токсин вызывает гибель культивируемых клеток за счет их апоптоза. Его ген достаточно широко распространен среди холерных вибрионов [26].

Токсины с неизвестным механизмом действия. Отдельную группу мы выделяем факторы, причастность которых к патогенезу показана, но механизм действия пока не установлен. В их число входит цитотонический фактор Cef (CHO cell elongating factor) – белок с ММ ~85 кДа, обладающий эстеразной активностью, вызывающий накопление жидкости в кишечнике мышей-сосунков и удлинение культивируемых клеток нескольких линий [6, 30]. При электронно-микроскопических исследованиях с

использованием обеих моделей было выявлено обезвоживание клеток и повреждение их органелл [6]. Однако биологическое действие Cef не связано с повышением уровня цАМФ [30]. Молекула Cef обладает активным центром сериновых липаз/эстераз, но этот домен не отвечает за биологическое действие [4], а как именно он работает в кишечнике, предстоит еще выяснить. Второй токсин с неизвестным механизмом действия – это недавно идентифицированная сериновая протеаза (ММ 59 кДа), вызывающая деструкцию ворсин, накопление геморрагической жидкости в кишечнике экспериментальных животных и повреждение всех слоев его слизистой [43].

Наконец, в литературе был описан еще один токсин с неизвестными генетическими детерминантами и неустановленным механизмом действия – NCT (new cholera toxin) [40], однако в дальнейшем нами было показано, что он представляет собой варьирующую смесь нескольких из перечисленных выше токсинов, компонентами которой, как правило, являются НА/Р и Cef.

Факторы колонизации. Кроме токсических субстанций, важная роль в патогенности холерных вибрионов принадлежит факторам адгезии, обеспечивающим колонизацию тонкого кишечника. К ним относится целый ряд связанных с клеткой пилинов: Serp (core encoded pilin), кодируемый геном в составе СТХ и pre-СТХ; токсин-корегулируемые пили адгезии TCP, за образование которых отвечает кластер генов в составе острова патогенности VPI; белки наружной мембраны Omp и др. Маннозочувствительные пили (MSHA) большей частью связывают с персистенцией в водоемах за счет формирования биопленок [17], однако их роль как факторов колонизации кишечника полностью не исключается. Штаммы, несущие СТХ либо pre-СТХ, как правило, содержат детерминанты всех или, по крайней мере, большинства этих факторов [5], СТХ/pre-СТХ⁻ (лишенные генов *serp* и *tcpA*) могут колонизировать кишечник за счет продукции других адгезинов. Кроме того, показана высокая колонизирующая способность вибрионов, экспрессирующих T3SS [45] и T6SS [29], механизм которой точно не установлен. Не исключено, что она является следствием «заякоривания» комплекса иглы в мембране клеток-мишеней. Повышение адгезивной активности может также обеспечиваться NanH, MARTX и HlyA [25, 37].

Молекулярные механизмы поддержания патогенетического потенциала

«Молекулярная мимикрия». В процессе эволюции холерные вибрионы «научились» использовать различные, порой «изохронные» способы взаимодействия с организмом хозяина. Одним из таких способов является использование своеобразной «мимикрии», или имитации токсинами и эффекторами бактерий структуры и функций эукариотических факторов, необходимых для поддержания гомеостаза в макроорганизме. По образному выражению A. Fasano

[22], холерные вибрионы, как и многие другие возбудители кишечных инфекций, «проявляют незаурядные умственные способности, ведя искусную подрынную деятельность по отношению к функциям клеток-мишеней и эксплуатируя их для получения собственной выгоды. Имитируя эукариотические сигнальные факторы, они подстраивают под себя активность регуляторных путей хозяина с помощью токсинов, обладающих поразительным сходством с модуляторами клеточной и межклеточной проницаемости». Мы полагаем, что данная «мимикрия» может в определенной степени препятствовать выработке специфических антител против факторов-«имитаторов», которые не воспринимаются иммунной системой как чужеродные антигены.

На сегодняшний день для холерных вибрионов достоверно установлено наличие трех случаев такой «мимикрии»:

- Zot – зонулин. Собственно токсин Zot, или ΔG [32], является аналогом функционально и иммунологически родственного ему эндогенного модулятора плотных контактов зонулина, осуществляющего физиологическую регуляцию межклеточной проницаемости ткани, и использует его рецептор [22];

- ST – гуанилин. ST является «суперагонистом» эндогенного гормона гуанилина, естественного активатора GC-C, необходимого для поддержания гомеостаза в кишечнике. ST на 50 % гомологичен гуанилину и превышает его по активности в 40 раз [22];

- VopF – формин/Spire. Молекула эффектора T3SS VopF содержит несколько доменов, сходных с таковыми эукариотических нуклеаторов актина – форма (FH1, FH2) и Spire (WH2), участвующих в поддержании гомеостаза актинового цитоскелета [45].

Дублирование генов, структуры и функций их продуктов. Интенсивное развитие молекулярных исследований геномов холерных вибрионов позволило наблюдать и такое интересное явление, как дублирование генов либо их участков, кодирующих активные домены факторов патогенности. Самый известный пример – дубликация профагов CTX и pre-CTX. Существуют штаммы, одновременно содержащие CTX и pre-CTX, т.е. у них (как и несущих тандем из двух pre-CTX) дублированы гены *sep*, *zot* и *ace*. [27]. У «гибридных» мозамбикских штаммов, выделенных в 2005 г., кроме тандема из двух профагов CTX на малой хромосоме (который присутствует и у штаммов, выделенных там же в 2004 г.) есть еще одна, «запасная» копия на большой хромосоме [19]. Две копии в составе большой и малой хромосом имеет ген транслокона T6SS *hcp* [38]. Актин-связывающий домен ее эффектора ACD-VgrG1 является гомологом и вероятным предшественником уникального домена ACD-RtxA [23]. Холерогенные штаммы Бенгал, утратившие ген *nanH* вместе с центральной частью острова VPI-2, каким-то образом приобрели другую нейраминидазу [10], происхождение которой можно будет установить после идентификации ее генетиче-

ских детерминант. Не исключено, что альтернативная нейраминидаза не является строго специфичной для вибрионов Бенгал и что ее ген(ы) также могут быть приобретены горизонтально.

Создается впечатление, будто холерные вибрионы в процессе эволюции накапливали и продолжают накапливать «про запас» гены, кодирующие разные факторы патогенности. Тогда в случае повреждения либо утраты одних генов всегда можно активизировать другие, восстановив тем самым реализуемую *V. cholerae* общую стратегию вирулентности.

Утрата «дублирующих» генов и энергосбережение. С другой стороны, иногда прослеживается и прямо противоположный процесс – утрата либо повреждение некоторых «дублирующих» генов или детерминант активных доменов, поддержание экспрессии которых может быть энергетически невыгодно. Например, как полагали S.T.Miyata и соавт. [34], классические штаммы «специально» накопили мутации, выводящие из строя T6SS, за ее ненадобностью, тогда как штаммы эльтор сохранили «в резерве» способность к ее экспрессии. Результаты наших исследований также показали, что одновременное присутствие детерминант ACD-VgrG1 и ACD-RtxA, ACD-VgrG1 и кластера генов T3SS, профага CTX и T3SS характерно лишь для меньшинства штаммов [5].

Факторы патогенности – продукты генов мобильных генетических элементов и множественность путей их горизонтальной передачи. Своеобразным путем реализации холерными вибрионами стратегии вирулентности представляется «эксплуатация» в качестве факторов патогенности продуктов генов *sep*, *ace* и *zot*, входящих в состав геномов филаментозных фагов CTXφ и pre-CTXφ и необходимых для фагопродукции [7, 13, 21]. Гены *ctxAB* не являются собственно фаговыми и не имеют отношения к вирогении. Они были приобретены фагом pre-CTXφ, в результате чего образовался CTXφ [13], который стал основным фактором их горизонтального переноса в клетки нехолерогенных штаммов. В настоящее время общеизвестна способность TSP служить ему рецептором. Однако их наличие является необходимым, но не достаточным условием эффективного проникновения фага в бактериальную клетку, для этого необходимы также продукты генов *tol*-кластера (*TolQRA*) [24]. Они способны обеспечивать горизонтальную передачу CTXφ даже в отсутствие TSP, хотя вероятность такого события довольно низка. Кластер генов *tolQRA* по всей видимости видоспецифичен [5], что вполне объяснимо с точки зрения показанного A.J.Heilpern, M.K.Waldor [24] участия их продуктов в поддержании целостности наружной бактериальной мембраны. Вторым альтернативным путем передачи генов CTX является неспецифическая трансдукция гетерологичными фагами. К ним относятся, в частности, VGJφ, переносящий CTXφ с более высокой частотой, чем при собственной TSP-зависимой трансдукции, и сходный с ним VEJφ [15]. Оба используют для адсорбции пили MSHA и

после проникновения в бактериальную клетку интегрируют в *attRS* либо в альтернативные *dif*-подобные сайты. Представители O1 серогруппы располагают еще и третьим путем – за счет трансдукции СТХ фагом CP-T1, рецептором которому служит O1-антиген. Вместе с геномом СТХ этот фаг часто «захватывает» и переносит и близлежащие гены RTX-кластера [14]. На самом деле число фагов, переносящих гены СТХ-элемента, вероятно, значительно больше [22]. Такая способность была выявлена у некоторых фагов, содержащих двухцепочечную ДНК, выделенных из морской воды [18]. Предположительно, переносить СТХ может и VSK [15].

Таким образом, холерные вибрионы извлекают определенную выгоду даже из взаимоотношений с внутриклеточными паразитами, используя их в качестве «транспортного средства» для распространения генов факторов патогенности в тотальной популяции вида.

Сам VPI был первоначально описан как другой филаментозный профаг, способный к образованию репликативной формы и инфекционных вирионов, однако ряд авторов опровергают это положение, не отрицая, однако, фагового происхождения острова [21]. Это же можно сказать и о VPI-2, обладающем всеми свойствами острова патогенности. Предполагалось, что он был приобретен за счет горизонтальной передачи, но впоследствии утратил мобильность [25]. Тем не менее, было показано, что VPI может передаваться от штамма к штамму фагом CP-T1, а VPI-2 способен к образованию внехромосомных элементов, которые, возможно, представляют первую стадию трансдукции, что требует экспериментальной проверки [21].

Не следует также забывать о таких путях генетического обмена, как конъюгация и трансформация, способность к которой у естественно некомпетентных холерных вибрионов может быть обретаема в присутствии хитина водных ракообразных [31].

Таким образом, краткий анализ структуры и функций известных на сегодняшний день факторов патогенности холерных вибрионов показал, что в распоряжении возбудителя имеется достаточно весомый «арсенал стратегических вооружений» для проявления вирулентности. Все его составляющие практически никогда не используются одновременно одним и тем же штаммом, вероятно, по причине энергетической выгоды, однако их генетические детерминанты представлены в общей популяции патогенного вида *V. cholerae*, будучи «распределены» по геномам его представителей в различных сочетаниях. Это предполагает возможность обмена генетическим материалом за счет процессов горизонтальной передачи, чему может способствовать наличие большого числа мобильных элементов и мегаинтегрона, а также «транспортных средств», представленных множеством бактериофагов, осуществляющих специфическую и неспецифическую трансдукцию. Следует отметить также, что при-

веденное здесь разделение факторов патогенности на группы по конечному результату их действия на клетки макроорганизма является весьма условным и несколько не претендует на статус исчерпывающей классификации. Оно было использовано нами с целью более наглядной иллюстрации взаимозаменяемости токсических субстанций, обладающих разными способами биологического действия, но в конечном итоге вызывающих развитие острого диарейного синдрома. Очевидно, этой взаимозаменяемостью объясняются неудачи при попытке создания совершенно неактивных живых холерных вакцин. Несмотря на то, что способность к эпидемическому распространению характерна только для холерогенных (*ctxAB*⁺) штаммов, в основном O1 серогруппы, на протяжении седьмой пандемии неоднократно наблюдались как спорадические случаи, так и вспышки тяжелых холероподобных заболеваний, обусловленных нехолерогенными (*ctxAB*⁻) штаммами [5, 20, 28, 41]. Экспрессия ими дополнительных факторов патогенности нередко приводит не только к нарушениям водно-электролитного баланса, но и к возникновению воспалительных процессов в кишечнике, которые менее выражены при действии СТ. Известно, например, что способностью вызывать воспаление, наряду с рассмотренными нами типами активности, обладают MARTX, WO7, HA/P, HlyA, T3SS и T6SS [12, 23, 29, 42, 46, 48]. Кроме того, экспрессия структурных генов зависит от сложных систем регуляции. Эти аспекты остались за пределами настоящего обзора и требуют отдельного рассмотрения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бардахчян Э.А., Монахова Е.В., Харланова Н.Г., Саямов С.Р., Писанов Р.В. Ультраструктурные изменения тонкой кишки мышей-сосунков, вызванные действием геммагглютини/протеазы холерных вибрионов. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2008; 145(4):475–80.
2. Бардахчян Э.А., Харланова Н.Г., Ломов Ю.М., Ткачева Т.И. Ультраструктурные изменения эпителиоцитов и сосудов микроциркуляторного русла тонкой кишки кроликов-сосунков, инфицированных холерными вибрионами. *Морфология.* 2001; 120(5):79–84.
3. Монахова Е.В., Писанов Р.В. Сравнительный анализ литературных и компьютерных данных о свойствах цитотоксического фактора NMDCY и геммагглютини/протеазы холерных вибрионов. *Пробл. особо опасных инф.* 2006; 1(91):15–20.
4. Монахова Е.В., Писанов Р.В., Мазрухо А.Б., Маркина О.В., Алексеева Л.П. Свойства Cef (CNO cell elongating factor) холерных вибрионов: биоинформационный анализ и экспериментальные данные. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2012; 2:10–14.
5. Монахова Е.В., Смоликова Л.М., Божко Н.В. ПЦР-детекция генов системы секреции третьего типа (TTSS) и других факторов патогенности/персистенции у холерных вибрионов различных серогрупп. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2010; 6:20–5.
6. Монахова Е.В., Федоренко Г.М., Мазрухо А.Б., Писанов Р.В., Кругликов В.Д., Маркина О.В., Алексеева Л.П. Изучение биологического действия цитотоксического фактора Cef холерных вибрионов на моделях *in vitro* и *in vivo*. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):62–5.
7. Писанов Р.В. Zot и Ace – дополнительные токсины, входящие в состав кассеты вирулентности холерных вибрионов. *Пробл. особо опасных инф.* 2002; 1(83):15–21.
8. Саямов С.Р., Монахова Е.В., Федоренко Г.М., Ткачева Т.И., Маркина О.В., Алексеева Л.П., Писанов Р.В., Бардахчян Э.А. Ультраструктурные изменения в культивируемых клетках под действием геммагглютини/протеазы холерных вибрионов. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2011; 152(10):438–42.
9. Смирнова Н.И., Заднова С.П., Шашкова А.В., Кутырев

- V.B. Варибельность генома измененных вариантов *Vibrio cholerae* биовара эль-тор, изолированных на территории России в современный период. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2011; 3:11–8.
10. Шиманюк Н.Я., Дуванова О.В., Сучков И.Ю., Мишанькин Б.Н. Нейраминидаза *Vibrio cholerae* O139 «Бенгал»: обнаружение, очистка и некоторые свойства. *Биотехнология.* 1999; 3:56–62.
11. Ahrens S., Geissler B., Satchell K.J. Identification of a His-Asp-Cys catalytic triad essential for function of the Rho inactivation domain (RID) of *Vibrio cholerae* MARTX toxin. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(2):1397–408.
12. Bhattacharyya S., Gosh S., Shant J., Ganguly N.K., Majumdar S. Role of the W07-toxin on *Vibrio cholerae*-induced diarrhoea. *Biochim. Biophys. Acta.* 2004; 1670:69–80.
13. Boyd E.F., Heilpern A.J., Waldor M.K. Molecular analysis of a putative CTX ϕ precursor and evidence for independent acquisition of distinct CTX ϕ s by toxigenic *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2000; 182(19):5530–38.
14. Boyd E.F., Waldor M.K. Alternative mechanism of cholera toxin acquisition by *Vibrio cholerae*: generalized transduction of CTX ϕ by bacteriophage CP-T1. *Infect. Immun.* 1999; 67(11):5898–905.
15. Campos J., Martínez E., Izquierdo Y., Fando R. VEJ ϕ , a novel filamentous phage of *Vibrio cholerae* able to transduce the cholera toxin genes. *Microbiology.* 2010; 156(1):108–15.
16. Chakrabarti S.R., Chaudhuri K., Sen K., Das J. Porins of *Vibrio cholerae*: purification and characterization of OmpU. *J. Bacteriol.* 1996; 178(2):524–30.
17. Chiavelli D.A., Marsh J.W., Taylor R.K. The mannose-sensitive hemagglutinin of *Vibrio cholerae* promotes adherence to zooplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001; 67(7):3220–5.
18. Choi S., Dunams D., Jiang S.C. Transfer of cholera toxin genes from O1 to non-O1/O139 strains by vibriophages from California coastal waters. *J. Appl. Microbiol.* 2010; 108(3):1015–22.
19. Choi S.Y., Lee J.H., Kim E.J., Lee H.R., Jeon Y.S., von Seidlein L., Deen J., Ansaruzzaman M., Lucas M., Barreto A., Songane F., Mondlane C., Nair G.B., Czerkinsky C., Clemens J.D., Chun J., Kim D.W. Classical RS1 and environmental RS1 elements in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59(3):302–8.
20. Dutta D., Chowdhury G., Pazhani G.P., Guin S., Dutta S., Ghosh S., Rajendran K., Nandy R.K., Mukhopadhyay A.K., Brattacharya M.K., Mitra U., Takeda Y., Nair G.B., Ramamurthy T. *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 serogroups and cholera-like diarrhoea, Kolkata, India. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19:464–7.
21. Faruque, S.M., Mekalanos J.J. Phage-bacterial interactions in the evolution of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Virulence.* 2012; 3(7):556–65.
22. Fasano A. Toxins and the gut: role in human disease. *Gut.* 2002; 50(Suppl 3):iii9–iii14.
23. Fullner Satchell K.J. MARTX, multifunctional autoprocessing repeats-in-toxin toxins. *Infect. Immun.* 2007; 75(11):5079–84.
24. Heilpern A.J., Waldor M.K. CTX ϕ infection of *Vibrio cholerae* requires the *tolQRA* gene products. *J. Bacteriol.* 2000; 182(6):1739–47.
25. Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (*nanH*) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology.* 2002; 148:3681–93.
26. Jørgensen R., Purdy A.E., Fieldhouse R.J., Kimber M.S. Cholix toxin, a novel ADP-ribosylating factor from *Vibrio cholerae*. *J. Biol. Chem.* 2008; 283(16):10671–8.
27. Ledón T., Campos J., Suzarte E., Rodríguez B., Marrero K., Fando R. El Tor and Calcutta CTX ϕ precursors coexisting with intact CTX ϕ copies in *Vibrio cholerae* O139 isolates. *Res. Microbiol.* 2008; 159(20):81–7.
28. Lizárraga-Partida M.L., Quilici M.-L. Molecular analyses of *Vibrio cholerae* O1 clinical strains, including new nontoxigenic variants isolated in Mexico during the cholera epidemic years between 1991 and 2000. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47(5):1364–71.
29. Ma A.T., McAuley S.B., Pukatzki S., Mekalanos J.J. Translocation of a *Vibrio cholerae* type VI secretion system requires bacterial endocytosis by host cell. *Cell Host Microbe.* 2009; 5:234–43.
30. McCardell B.A., Sathyamoorthy V., Michalski J., Lavu S., Kothary M., Livezey J., Kaper J.B., Hall R. Cloning, expression and characterization of the CHO cell elongating factor (Cef) from *Vibrio cholerae* O1. *Microb. Pathog.* 2002; 32(4):165–72.
31. Meibom K.L., Blakesch M., Dolganov N.A., Wu C.Y., Schoolnik G.K. Chitin induces natural competence in *Vibrio cholerae*. *Science.* 2005; 310(5755):1824–7.
32. Menon D., Karyekar C.S., Fasano A., Lu R., Eddington N.D. Enhancement of brain distribution of anticancer agents using DeltaG, the 12 kDa active fragment of ZOT. *Int. J. Pharm.* 2005; 306(1–2):122–31.
33. Miller K.A., Hamilton E., Dziejman M. The *Vibrio cholerae* *trh* gene is coordinately regulated in vitro with type III secretion system genes by VttR(A)/VttR(B) but does not contribute to Caco2-BBE cell cytotoxicity. *Infect. Immun.* 2012; 80(12):4444–55.
34. Miyata S.T., Kitaoka M., Wieteska L., Frech C., Chen N., Pukatzki S. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: evaluating its role in the human disease cholera. *Front. Microbiol.* 2010; 1:117.
35. Nishibuchi M., Khaomaneemai V., Honda T., Kaper J.B., Miwatani T. Comparative analysis of the hemolysin genes of *Vibrio cholerae* non-O1, *V. mimicus*, and *V. hollisae* that are similar to the *tdh* gene of *V. parahaemolyticus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 1990; 67:251–6.
36. O'Brien A.D., Holmes R.K. Shiga and shiga-like toxins. *Microbiol. Rev.* 1987; 51(2):206–20.
37. Olivier V., Queen J., Satchell K.J.F. Successful small intestine colonization of adult mice by *Vibrio cholerae* requires ketamine anesthesia and accessory toxins. *PLoS One.* 2009; 4:e7352.
38. Pukatzki S., McAuley S.B., Miyata S.T. The type VI secretion system: translocation of effectors and effector-domains. *Curr. Opin. Microbiol.* 2008; 12(1):1–7.
39. Saha P.K., Koley H., Nair G.B. Purification and characterization of an extracellular secretogenic non-membrane-damaging cytotoxin produced by clinical strains of *Vibrio cholerae* non-O1. *Infect. Immun.* 1996; 64(8):3101–8.
40. Sanyal S.C. A new diarrhoeagenic cholera toxin. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 1990; 9(1):125.
41. Sarkar B., Bhattacharya T., Ramamurthy T., Shimada T., Takeda Y., Nair G.B. Preferential association of the heat-stable enterotoxin gene (*stn*) with environmental strains of *Vibrio cholerae* belonging to the O14 serogroup. *Epidemiol. Infect.* 2002; 129(2):245–51.
42. Sears C.L., Kaper J.D. Enteric bacterial toxins: mechanisms of action and linkage to intestinal secretion. *Microbiol. Rev.* 1996; 60(1):167–215.
43. Syngkon A., Elluri S., Koley H., Rompikuntal P.K., Saha D.R., Chakrabarti M.K., Bhadra R.K., Wai S.N., Pal A. Studies on a novel serine protease of a $\Delta hapA\Delta priV$ *Vibrio cholerae* O1 strain and its role in hemorrhagic response in the rabbit ileal loop model. *PLoS One.* 2010; 5:e13122.
44. Takeda T., Peina Y., Ogawa A., Dohi S., Abe H., Nair G.B., Pal S.C. Detection of heat-stable enterotoxin in a cholera toxin gene-positive strain of *Vibrio cholerae* O1. *FEMS Microbiol. Lett.* 1991; 64(1):23–7.
45. Tam V.C., Serruto D., Dziejman M., Briehier W., Mekalanos J.J. A type III secretion system in *Vibrio cholerae* translocates a form-in/spire hybrid-like actin nucleator to promote intestinal colonization. *Cell Host Microbe.* 2007; 1(2):95–107.
46. Tam V.C., Suzuki M., Coughlin M., Saslowsky D., Biswas K., Lencer W.I., Faruque S.M., Mekalanos J.J. Functional analysis of VopF activity required for colonization in *Vibrio cholerae*. *mBio.* 2010; 1(5):e00289–10.
47. Valeva A., Walev I., Weis I., Boukhallouf F., Wassenaar T.M., Endres K., Fahrenholz F., Bhakdi S., Zitzer A. A cellular metalloproteinase activates *Vibrio cholerae* pro-cytolysin. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(24):25143–8.
48. Walia K., Ganguly N.K. Toxins of *Vibrio cholerae* and their role in inflammation, pathogenesis, and immunomodulation. In: Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., editors. *Epidemiological and molecular aspects on cholera.* Springer Science+Business Media; 2010. P. 259–74.
49. Wu Z., Nybon A., Magnusson K.E. Distinct effects of *Vibrio cholerae* hemagglutinin/protease on the structure and localization of the tight junction-associated proteins occludin and ZO-1. *Cell Microbiol.* 2000; 2(1):11–7.
50. Yanagihara I., Nakahira K., Yamane T., Kaieda S. Structure and functional characterization of *Vibrio parahaemolyticus* thermo-stable direct hemolysin. *J. Biol. Chem.* 2010; 285(21):16267–74.

References

- Bardakch'yan E.A., Monakhova E.V., Kharlanova N.G., Sayamov S.R., Pisanov R.V. [Ultra structural changes in the small intestine of suckling mice as a consequence of exposure to cholera vibrio haemagglutinin/protease]. *Byul. Eksperim. Biol. Med.* 2008; 145(4):475–80.
- Bardakch'yan E.A., Kharlanova N.G., Lomov Yu.M., Tkacheva T.I. [Ultra structural changes of epithelial cells and microvasculature of small intestine of suckling rabbits inoculated with cholera vibrios]. *Morfologiya.* 2001; 120(5):79–84.
- Monakhova E.V., Pisanov R.V. [A Comparative analysis of literature and computer-based data about the properties of cholera vibrio cytotoxic factor, NMDCY, and hemagglutinin/protease]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2006; 1(91):15–20.
- Monakhova E.V., Pisanov R.V., Mazrukho A.B., Markina O.V., Alekseeva L.P. [Cef properties (CHO cell elongating factor) of cholera vibrios: bio-information analysis and experimental findings]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2012; 2:10–4.
- Monakhova E.V., Smolikova L.M., Bozhko N.V. [PCR detection of TTSS genes (third type secretion system) and other pathogenicity/persistence factors in cholera vibrios of various serotypes]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2010; 6:20–5.

6. Monakhova E.V., Fedorenko G.M., Mazrukho A.B., Pisanov R.V., Kruglikov V.D., Markina O.V., Alekseeva L.P. [Study of Biological Effect of CHO-Cell Elongating Factor of *Vibrio cholerae* on Models *in vitro* and *in vivo*]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):62–5.
7. Pisanov R.V. [Zot and Ace are additional toxins included in cholera vibrio virulence cassette]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2002; 1(83):15–21.
8. Sayamov S.R., Monakhova E.V., Fedorenko G.M., Tkacheva T.I., Markina O.V., Alekseeva L.P., Pisanov R.V., Bardakhch'yan E.A. [Ultra structural changes in cultured cells under the influence of cholera vibrio hemagglutinin/protease]. *Byul. Eksperim. Biol. Med.* 2011; 152(10):438–42.
9. Smirnova N.I., Zadnova S.P., Shashkova A.V., Kutuyev V.V. [Variability of the genome of the altered variants of *Vibrio cholerae* biovar El Tor, isolated in the territory of Russia in modern period]. *Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol.* 2011; 3:11–8.
10. Shimanyuk N.Ya., Duvanova O.V., Suchkov I.Yu., Mishan'kin B.N. [*Vibrio cholerae* O139 "Bengal" receptor destroying enzyme: detection, purification and particular properties]. *Biotekhnologiya.* 1999; 3:56–62.
11. Ahrens S., Geissler B., Satchell K.J. Identification of a His-Asp-Cys catalytic triad essential for function of the Rho inactivation domain (RID) of *Vibrio cholerae* MARTX toxin. *J. Biol. Chem.* 2013; 288(2):1397–408.
12. Bhattacharyya S., Gosh S., Shant J., Ganguly N.K., Majumdar S. Role of the W07-toxin on *Vibrio cholerae*-induced diarrhoea. *Biochim. Biophys. Acta.* 2004; 1670:69–80.
13. Boyd E.F., Heilpern A.J., Waldor M.K. Molecular analysis of a putative CTX ϕ precursor and evidence for independent acquisition of distinct CTX ϕ s by toxigenic *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2000; 182(19):5530–38.
14. Boyd E.F., Waldor M.K. Alternative mechanism of cholera toxin acquisition by *Vibrio cholerae*: generalized transduction of CTX ϕ by bacteriophage CP-11. *Infect. Immun.* 1999; 67(11):5898–905.
15. Campos J., Martínez E., Izquierdo Y., Fando R. VEJ ϕ , a novel filamentous phage of *Vibrio cholerae* able to transduce the cholera toxin genes. *Microbiology.* 2010; 156(1):108–15.
16. Chakrabarti S.R., Chaudhuri K., Sen K., Das J. Porins of *Vibrio cholerae*: purification and characterization of OmpU. *J. Bacteriol.* 1996; 178(2):524–30.
17. Chiavelli D.A., Marsh J.W., Taylor R.K. The mannose-sensitive hemagglutinin of *Vibrio cholerae* promotes adherence to zooplankton. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001; 67(7):3220–5.
18. Choi S., Dunams D., Jiang S.C. Transfer of cholera toxin genes from O1 to non-O1/O139 strains by vibriophages from California coastal waters. *J. Appl. Microbiol.* 2010; 108(3):1015–22.
19. Choi S.Y., Lee J.H., Kim E.J., Lee H.R., Jeon Y.S., von Seidlein L., Deen J., Ansaruzzaman M., Lucas M., Barreto A., Songane F., Mondlane C., Nair G.B., Czerkinsky C., Clemens J.D., Chun J., Kim D.W. Clonal RS1 and environmental RS1 elements in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59(3):302–8.
20. Dutta D., Chowdhury G., Pazhani G.P., Guin S., Dutta S., Ghosh S., Rajendran K., Nandy R.K., Mukhopadhyay A.K., Brattacharya M.K., Mitra U., Takeda Y., Nair G.B., Ramamurthy T. *Vibrio cholerae* non-O1, non-O139 serogroups and cholera-like diarrhea, Kolkata, India. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19:464–7.
21. Faruque, S.M., Mekalanos J.J. Phage-bacterial interactions in the evolution of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Virulence.* 2012; 3(7):556–65.
22. Fasano A. Toxins and the gut: role in human disease. *Gut.* 2002; 50(Suppl 3):iii9–iii14.
23. Fullner Satchell K.J. MARTX, multifunctional autoprocessing repeats-in-toxin toxins. *Infect. Immun.* 2007; 75(11):5079–84.
24. Heilpern A.J., Waldor M.K. CTX ϕ infection of *Vibrio cholerae* requires the *tolQRA* gene products. *J. Bacteriol.* 2000; 182(6):1739–47.
25. Jermy W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (*nanH*) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology.* 2002; 148:3681–93.
26. Jørgensen R., Purdy A.E., Fieldhouse R.J., Kimber M.S. Cholix toxin, a novel ADP-ribosylating factor from *Vibrio cholerae*. *J. Biol. Chem.* 2008; 283(16):10671–8.
27. Ledón T., Campos J., Suzarte E., Rodríguez B., Marrero K., Fando R. El Tor and Calcutta CTX ϕ precursors coexisting with intact CTX ϕ copies in *Vibrio cholerae* O139 isolates. *Res. Microbiol.* 2008; 159(20):81–7.
28. Lizárraga-Partida M.L., Quilici M.-L. Molecular analyses of *Vibrio cholerae* O1 clinical strains, including new nontoxigenic variants isolated in Mexico during the cholera epidemic years between 1991 and 2000. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47(5):1364–71.
29. Ma A.T., McAuley S.B., Pukatzki S., Mekalanos J.J. Translocation of a *Vibrio cholerae* type VI secretion system requires bacterial endocytosis by host cell. *Cell Host Microbe.* 2009; 5:234–43.
30. McCardell B.A., Sathyamoorthy V., Michalski J., Lavu S., Kothary M., Livezey J., Kaper J.B., Hall R. Cloning, expression and characterization of the CHO cell elongating factor (Cef) from *Vibrio cholerae* O1. *Microb. Pathog.* 2002; 32(4):165–72.
31. Meibom K.L., Blokesch M., Dolganov N.A., Wu C.Y., Schoolnik G.K. Chitin induces natural competence in *Vibrio cholerae*. *Science.* 2005; 310(5755):1824–7.
32. Menon D., Karyekar C.S., Fasano A., Lu R., Eddington N.D. Enhancement of brain distribution of anticancer agents using DeltaG, the 12 kDa active fragment of ZOT. *Int. J. Pharm.* 2005; 306(1–2):122–31.
33. Miller K.A., Hamilton E., Dziejman M. The *Vibrio cholerae* *trh* gene is coordinately regulated *in vitro* with type III secretion system genes by VttR(A)/VttR(B) but does not contribute to Caco2-BBE cell cytotoxicity. *Infect. Immun.* 2012; 80(12):4444–55.
34. Miyata S.T., Kitaoka M., Wieteska L., Frech C., Chen N., Pukatzki S. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: evaluating its role in the human disease cholera. *Front. Microbiol.* 2010; 1:117.
35. Nishibuchi M., Khaomaneiam V., Honda T., Kaper J. B., Miwatani T. Comparative analysis of the hemolysin genes of *Vibrio cholerae* non-O1, *V. mimicus*, and *V. hollisae* that are similar to the *tdh* gene of *V. parahaemolyticus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 1990; 67:251–6.
36. O'Brien A.D., Holmes R.K. Shiga and shiga-like toxins. *Microbiol. Rev.* 1987; 51(2):206–20.
37. Olivier V., Queen J., Satchell K.J.F. Successful small intestine colonization of adult mice by *Vibrio cholerae* requires ketamine anesthesia and accessory toxins. *PLoS One.* 2009; 4:e7352.
38. Pukatzki S., McAuley S.B., Miyata S.T. The type VI secretion system: translocation of effectors and effector-domains. *Curr. Opin. Microbiol.* 2008; 12(1):1–7.
39. Saha P.K., Koley H., Nair G.B. Purification and characterization of an extracellular secretogenic non-membrane-damaging cytotoxin produced by clinical strains of *Vibrio cholerae* non-O1. *Infect. Immun.* 1996; 64(8):3101–8.
40. Sanyal S.C. A new diarrhoeagenic cholera toxin. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 1990; 9(1):125.
41. Sarkar B., Bhattacharya T., Ramamurthy T., Shimada T., Takeda Y., Nair G.B. Preferential association of the heat-stable enterotoxin gene (*stn*) with environmental strains of *Vibrio cholerae* belonging to the O14 serogroup. *Epidemiol. Infect.* 2002; 129(2):245–51.
42. Sears C.L., Kaper J.D. Enteric bacterial toxins: mechanisms of action and linkage to intestinal secretion. *Microbiol. Rev.* 1996; 60(1):167–215.
43. Syngkon A., Elluri S., Koley H., Rompikuntal P.K., Saha D.R., Chakrabarti M.K., Bhadra R.K., Wai S.N., Pal A. Studies on a novel serine protease of a Δ hapA Δ prtV *Vibrio cholerae* O1 strain and its role in hemorrhagic response in the rabbit ileal loop model. *PLoS One.* 2010; 5:e13122.
44. Takeda T., Peina Y., Ogawa A., Dohi S., Abe H., Nair G.B., Pal S.C. Detection of heat-stable enterotoxin in a cholera toxin gene-positive strain of *Vibrio cholerae* O1. *FEMS Microbiol. Lett.* 1991; 64(1):23–7.
45. Tam V.C., Serruto D., Dziejman M., Briehner W., Mekalanos J.J. A type III secretion system in *Vibrio cholerae* translocates a formin/spire hybrid-like actin nucleator to promote intestinal colonization. *Cell Host Microbe.* 2007; 1(2):95–107.
46. Tam V.C., Suzuki M., Coughlin M., Saslowsky D., Biswas K., Lencer W.I., Faruque S.M., Mekalanos J.J. Functional analysis of VopF activity required for colonization in *Vibrio cholerae*. *mBio.* 2010; 1(5):e00289–10.
47. Valeva A., Walev I., Weis I., Boukhalouk F., Wassenaar T.M., Endres K., Fahrenholz F., Bhakdi S., Zitzer A. A cellular metalloproteinase activates *Vibrio cholerae* pro-cytolysin. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(24):25143–8.
48. Walia K., Ganguly N.K. Toxins of *Vibrio cholerae* and their role in inflammation, pathogenesis, and immunomodulation. In: Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., editors. *Epidemiological and molecular aspects on cholera*. Springer Science+Business Media; 2010. P. 259–74.
49. Wu Z., Nybon A., Magnusson K.E. Distinct effects of *Vibrio cholerae* hemagglutinin/protease on the structure and localization of the tight junction-associated proteins occludin and ZO-1. *Cell Microbiol.* 2000; 2(1):11–7.
50. Yanagihara I., Nakahira K., Yamane T., Kaieda S. Structure and functional characterization of *Vibrio parahaemolyticus* thermostable direct hemolysin. *J. Biol. Chem.* 2010; 285(21):16267–74.

Authors:

Monakhova E.V. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru

Об авторах:

Монохова Е.В. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru

Поступила 13.05.13.