

УДК 595.132:577.175.82

**НЕЙРОПЕПТИДЫ У НЕМАТОД: НАЛИЧИЕ,
ЛОКАЛИЗАЦИЯ, ВЛИЯНИЕ НА ЛОКОМОТОРНОЕ ПОВЕДЕНИЕ**

Т.А. Малютина, Н.Б. Теренина, Н.Д. Крещенко

Аннотация

Исследования наличия и распределения нейропептидов у свободноживущих и паразитических нематод различных систематических групп были начаты в конце 80-х годов XX в. В результате многочисленных исследований в тканях нематод были выявлены FMRФамид-подобные или родственные пептиды (FLPs или FaRPs) – относительно короткие пептиды, в аминокислотной последовательности которых на С-конце расположен RФамид-мотив. FMRФамид-подобные пептиды – это одно из крупнейших и наиболее разнообразных семейств нейропептидов, которое проявляет структурную консервативность у всех типов животных, включая представителей типа *Nemathelminthes* (класс *Nematoda*). Показано, что многие FMRФамид-подобные нейропептиды у свободноживущих и паразитических нематод имеют высокую степень внутривидового структурного консерватизма, который не зависит от образа их жизни, что может свидетельствовать о важности биологической роли FMRФамид-подобных нейропептидов у нематод. Обзор данных литературы посвящен анализу воздействия некоторых относительно коротких FMRФамид-подобных нейропептидов, выделенных из свободноживущих и зоопаразитических нематод, на локомоторное поведение нематоды *Ascaris suum* и возможности использования нейропептидов нематод или их структурных синтетических аналогов в качестве антигельминтиков.

Ключевые слова: нематоды, нейропептиды, FMRФамид-подобные нейропептиды, рецепторы, локомоции.

Введение

Первые сообщения о выявлении нейропептидов у нематод появились в литературе в конце 80-х годов XX в. и эти сообщения послужили мощным толчком к развитию иммуноцитохимических исследований наличия и распределения пептидов у свободноживущих и паразитических нематод различных систематических групп [1, 2]. В результате многочисленных исследований в тканях нематод были выявлены различные FMRФамид-подобные пептиды (FLPs или RaRPs) – относительно короткие пептиды, в аминокислотной последовательности, на С-конце которых расположен RФамид-мотив [3].

Как известно, первоначально тетрапептид FMRФамид был выделен из ганглиев двустворчатых моллюсков *Macrocallista nimbosa* и охарактеризован структурно и фармакологически [4].

FMRФамид-подобные нейропептиды – это одно из крупнейших и наиболее разнообразных семейств нейропептидов, которое проявляет структурный консерватизм у всех типов животных [5, 6]. Показано, что многие FMRФамид-подобные нейропептиды у свободноживущих и паразитических нематод также

имеют высокую степень внутривидового структурного консерватизма, который не зависит от образа их жизни, что может свидетельствовать о важности биологической роли FMRFамид-подобных нейропептидов у нематод [7].

Таким образом, за последние 30–35 лет FMRFамид-подобные нейропептиды выявлены в нервной ткани животных, относящихся к разным типам, включая тип *Nemathelminthes* (класс Nematoda).

По последним данным в типе Nematoda идентифицировано более 500 FMRFамид-подобных нейропептидов у 46 видов свободноживущих и паразитических нематод [7]. Молекулярно-генетический анализ показал, что набор FMRFамид-подобных нейропептидов наиболее схож у свободноживущей нематоды *Caenorhabditis elegans* и паразитической нематоды *Ascaris suum* и существенно отличается от *C. elegans* в сторону уменьшения у других нематод, например, у паразитических нематод *Meloidogyne incognita*, *Trichuris muris* и *Trichinella spiralis* [8, 9].

В литературе представлены данные, свидетельствующие об участии FMRFамид-подобных нейропептидов в различных биологических и физиологических процессах у нематод, включая питание, репродукцию, контроль энергетического баланса, локомоции и др. [10, 11]. Однако прямых данных о выявлении или определении основной функции FMRFамид-подобных нейропептидов у круглых червей очень мало, несмотря на повсеместность распределения этих пептидов в различных нервных структурах нематод.

Настоящее сообщение посвящено обзору данных литературы, касающихся воздействия некоторых относительно коротких FMRFамид-подобных нейропептидов, выделенных из свободноживущих и зоопаразитических нематод, на локомоторное поведение нематоды *Ascaris suum* и попытке связать сложные локомоторные реакции червей на воздействие этих FMRFамид-подобных нейропептидов с известными биологическими свойствами нейропептидов.

1. Выявление и локализация

Хотя к настоящему времени FMRFамид-подобные нейропептиды выявлены у многих видов свободноживущих, а также паразитических зоо- и фитонематод в различных отделах нервной системы, наиболее подробное описание распределения FMRFамид-подобных нейропептидов у нематод представлено на примере паразитической нематоды *A. suum* [2, 11, 12].

Так, у свиной аскариды иммунореактивность к FMRFамид-подобным нейропептидам выявлена в различных компонентах центральной и периферической нервной системы, включая вентральный, дорзальный, латеральный и сублатеральный продольные нервные стволы, головные папиллярные нейроны, циркумфарингальное нервное кольцо и связанные с ним ганглии, сенсорные нейроны, хвостовые ганглии, а также вагинальные, ректальные и фарингальные нейроны.

Сходная топография распределения иммунореактивности к FMRFамид-подобным нейропептидам в различных нервных структурах отмечена у нематоды *C. elegans* и других свободноживущих и зоопаразитических нематод. В то же время имеются данные, указывающие на качественные различия иммунореактивности между свободноживущими и фитопаразитическими нематодами (например, у *Heterodera glycines*) [13].

2. Физиологические эффекты FMRFамид-подобных пептидов на соматической мускулатуре нематод

Первые два FMRFамид-подобных нейропептида были выделены из головного конца (примерно 1 см) тела аскариды, секвенированы и обозначены как AF1 (Lys-Asn-Clu-Phe-Ile-Arg-Phe amide) и AF2 (Lys-His-Clu-Tyr-Leu-Arg-Phe amide) [14, 15]. Затем пептиды AF1 и AF2 и ряд других FMRFамид-подобных пептидов были экстрагированы из других видов свободноживущих и паразитических нематод [16–19].

По последним данным у 36 видов свободноживущих и паразитических нематод выявлено 34 гена (*flp-1* – *flp-34*), кодирующих FMRFамид-подобные нейропептиды, а также гены, кодирующие предшественников этих пептидов [10].

Большинство данных о действии нейропептидов нематод получено с помощью регистрации изометрического натяжения препаратов мышечных полос и электрофизиологической регистрации активности мышц стенки тела, мышечных клеток и отдельных моторных нейронов крупной нематоды *A. suum*. В экспериментах на мышечных фрагментах нематоды исследование активности пептидов в соответствующих концентрациях было проведено путем перфузии пептидов в экспериментальных камерах либо с помощью макрофоретической аппликации исследованных нейропептидов в локальную область мышечного фрагмента. В ряде случаев эксперименты были проведены на интактных самках аскарид.

Установлено, что все FMRFамид-подобные нейропептиды нематод, испытанные на дорзальной мускулатуре *A. suum*, вызывают разнообразные эффекты, зависящие от концентрации пептида в экспериментальной среде и включают фазу расслабления, фазу увеличения мышечного натяжения (тонуса), а также в ряде случаев – возбуждение ритмической активности мышечного препарата. При этом у различных нейропептидов нематод первоначальной доминирующей фазой может быть либо фаза расслабления мускулатуры, либо фаза повышения мышечного тонуса препарата аскариды.

Сложность ответов мышечных фрагментов тела аскариды на воздействие ряда FMRFамид-подобных нейропептидов нематод показана в экспериментах с испытанием нейропептидов AF1–AF4, AF8, AF10, AF17, AF21–AF23, а также PF1–PF4 в физиологических дозах [1, 14, 20–24].

Так, пептид AF1 в концентрации $1 \cdot 10^{-9}$ М (1 нМ и менее) вызывал сильные и глубокие двухфазные эффекты в виде первоначального расслабления мышечного препарата нематоды с последующим его сокращением. При воздействии на интактных аскарид пептид AF1 вызывал угнетение локомоторных движений и уменьшение длины тела, а в концентрациях $1 \cdot 10^{-9}$ – $1 \cdot 10^{-7}$ М быстро и обратимо приводил к отмене медленных колебаний мембранного потенциала.

Нейропептид AF2 имел похожий двухфазный эффект на мускулатуре аскариды, но его эффективность была на три порядка выше, чем у AF1 [25]. Кроме того, недавно установлено, что пептид AF2 способен частично потенцировать сокращение мускулатуры аскариды, вызванное холинергическими антигельминтиками типа левамизола, путем увеличения входа ионов Ca^{+2} через потенциал-активированные каналы [26].

Высказывается предположение, что две фазы эффекта нейропептидов AF1 и AF2 могут быть медиированы различными рецепторами, при этом фаза

возбуждения может быть следствием ингибиторного эффекта на ингибиторные интернейроны нематоды, а фаза расслабления может быть вызвана прямым действием на мышечные клетки [1, 20, 22].

Нейропептиды AF3 (AVPGVLRFamide) и AF4 (GDVPGVLRFamide) в концентрации 0.1 мкМ вызывали в основном сокращение мышечных препаратов аскариды [1, 27].

Установлено, что нейропептид AF8 (KSAYMRamide) имел противоположные эффекты при его аппликации на соматическую мускулатуру аскариды, вызывая медленное расслабление дорзальных мышц и глубокие возбуждающие эффекты на вентральную мускулатуру нематоды, а у интактных нематод инъекция нейропептида AF8 вызывает скручивание вентральной мускулатуры. Кроме того показано, что пептид AF10 вызывает длительное сокращение препарата, а AF17 увеличивает длину тела нематоды [18, 23].

Недавно в нервной системе свиной аскариды выявлены три новых FMRFамид-подобных пептида AF21 (AMRNALVRFamide), AF22 (NGAPQPFVRFamide) и AF23 (SGMRNALVRFamide), кодируемые геном *afp-6*, и исследованы их эффекты на локомоции интактных червей, мышечный тонус вентральных и дорзальных фрагментов мускулатуры, а также на мембранный потенциал мышечных клеток и мотонейронов [11]. Показано, что пептиды AF21–AF23, будучи введенными в полость тела интактных самок аскарид в виде инъекции в концентрации 10 мкМ, влияли на общую биоактивность и тонус тела, что выражалось в развитии паралича, уменьшении подвижности, слабом понижении тонуса, прекращении волнообразных движений тела и поисковых движений головного конца червя. Эффект всех трех нейропептидов на интактных червей носил длительный характер (несколько часов). Эксперименты на фрагментах спинной и брюшной мускулатуры нематод показали, что пептиды AF21–AF23 при их макрофоретической аппликации (концентрация пептидов составляла 1 мкМ в 20 мкл раствора) однозначно вызывали обратимое расслабление мускулатуры, при этом нейропептид AF22 вызывал наиболее значительный эффект. Все три пептида при макрофоретической аппликации на поверхность дорзальных и вентральных мышечных клеток приводили к гиперполяризации. Наиболее сильная гиперполяризация отмечена на дорзальных мышечных клетках при воздействии пептида AF22.

Исследование эффектов пептидов AF21–AF23 в концентрации 1 мкМ на мембранный потенциал и входное сопротивление трех классов спинных мотонейронов показало, что пептид AF22 вызывал сильную гиперполяризацию у этих мотонейронов. Напротив, нейропептиды AF21 и AF23 вызывали умеренно сильную деполяризацию у всех трех классов спинных мотонейронов аскариды, которая могла быть гиперполяризована под воздействием пептида AF22.

Пептиды PF1 (SDPNFLRFamide) и PF2 (SADPNFLRFamide), выделенные из свободноживущих нематод, в концентрации 10 нМ вызывали расслабление мышечных препаратов аскариды и дозозависимую гиперполяризацию мембраны мышечной клетки аскариды [1, 20, 22]. Отмечается, что расслабление мышечных полос, вызванное аппликацией PF1, носило устойчивый характер.

Установлено, что эффект пептида PF2 на мышечные препараты аскариды был качественно схож с воздействием PF1 и в равной степени соответствовал эффективности PF1 [1, 22].

Пептид PF3 (KSA_YMR_Famide) вызывал сложный физиологический эффект на мышечные препараты аскариды. Так, PF3 в концентрации 1 мкМ вызывал расслабление мышечных фрагментов червя, в которых при препарировании был сохранен дорзальный нервный ствол, и сокращение мышечных фрагментов, в которых был сохранен вентральный нервный ствол (концентрация PF3 0.1 мкМ). Эффекты пептида на мышечные препараты аскариды, состоящие из дорзальных и вентральных мышц, были обратимы и зависели от концентрации исследуемого пептида и наличия фрагментов нервных стволов в препаратах. При денервации мышечных полос нематоды воздействие PF3 на препараты червей было неэффективным.

Воздействие пептида PF4 (KPN_GIR_Famide) в концентрациях 100–300 нМ и 1 мкМ на дорзальную мышечную полосу *A. suum* вызывает расслабление мускулатуры препарата и дозозависимую гиперполяризацию мышечных клеток, сопровождающуюся модуляцией активности Cl⁻-каналов [1, 21, 28].

Установлено, что PF4 вызывал расслабление мышечного фрагмента аскариды независимо от присутствия в нем нервной ткани, которое носит кратковременный характер. Предполагается, что кратковременность эффекта на мускулатуре аскариды этого пептида может быть связана со способностью PF4 вызывать десенситизацию мышечного фрагмента нематоды, зависимую от концентрации нейропептида [22].

3. Рецепторы FMR_Fамид-подобных нейропептидов у нематод

Известно, что большинство FMR_Fамид-подобных нейропептидов реализуют свои физиологические эффекты через связывание с G-протеин-сопряженными рецепторами (GPCRs) [29].

G-протеин-сопряженные рецепторы хорошо изучены у млекопитающих и представляют собой семиспиральные рецепторы, связанные с G-белком. Эти рецепторы, обнаруженные почти у всех эукариот, составляют большое семейство трансмембранных рецепторов, выполняющих основную функцию активаторов внутриклеточных путей передачи сигнала, приводящего в итоге к клеточному ответу, и участвуют в широком круге физиологических процессов в организме животных [30].

Установлено, что у свободноживущих нематод (на примере *C. elegans*) нейропептиды, так же как и у других животных, в большинстве случаев передают сигнал через связывание с G-протеин-сопряженными рецепторами [31].

В отношении паразитических нематод в экспериментах на мышечных мембранах стенки тела аскариды получены результаты, подтверждающие, что рецептором нейропептида AF2, повышающим прохождение ионов кальция через потенциал-зависимые Ca²⁺-каналы мембраны клетки, также является G-протеин-сопряженный рецептор [25, 26]. В то же время имеются данные о том, что воротным хлорным (Cl⁻) каналам рецепторов мышечных клеток аскариды, активируемым FMR_Fамид-подобным нейропептидом PF4, не требуется для функционирования связывание с G-белком и они могут напрямую открываться пептидом PF4 [32, 33].

При исследовании фармакологических свойств нейропептидов у свободноживущих нематод (на примере *C. elegans*) выявлено, что рецептор FMR_Fамид-подобных нейропептидов может связываться многократно с пептидами, коди-

руемыми различными генами и один пептид может связываться с кратным числом рецепторов, что делает чрезвычайно сложной оценку физиологических эффектов пептидов [10, 34].

Обнаружение рецепторов для некоторых FMRFамид-подобных нейропептидов у нематод указывает на возможность фармакологического воздействия на локомоции нематод с помощью веществ, которые могут быть агонистами или антагонистами физиологического эффекта нейропептидов. В связи с этим рецепторы FMRFамид-подобных нейропептидов у паразитических нематод могут быть мишенями для новых антигельминтных препаратов, контролирующих и ограничивающих паразитарную инвазию.

4. Обсуждение

Многими исследователями структуры и функции пептидергической системы у круглых червей отмечена сложность определения основных физиологических функций нейропептидов у этих организмов.

Это, очевидно, следует из эффектов, вызываемых нейропептидами AF1–AF4, AF8, AF10, AF17, AF21–AF23 и другими пептидами этой группы, выделенными из аскариды, а также пептидами PF1–PF4, и описанных выше на соматической мускулатуре нематоды *A. suum*.

В литературе высказывается предположение о том, что регистрация разнообразных физиологических реакций фрагментов дорсальных и вентральных мышц аскариды в ответ на воздействие ряда FMRFамид-подобных нейропептидов может быть связана с различными методическими подходами при анализе физиологических эффектов пептидов на мускулатуре аскариды.

Так, активность нейропептидов AF21–AF23, в отличие от других нейропептидов, выделенных из нематод, была исследована на фрагментах дорсальной и вентральной мускулатуры аскариды при макрофоретической аппликации нейропептидов в локальную область мышечного фрагмента тела аскариды [11]. Возможно, что при такой методике вводимые нейропептиды не имели доступа к тем нервно-мышечным структурам и рецепторам, которые отвечают сложной реакцией на воздействие исследуемых веществ [11]. Однако большинство физиологических и электрофизиологических экспериментов проведено на фрагментах мускулатуры аскариды методом перфузии исследованных веществ, и в результате таких исследований получены сложные ответы мышечных фрагментов нематоды на воздействие ряда FMRFамид-подобных нейропептидов [1, 20–22].

Можно предположить, что такое разнообразие реакций интактных нематод, фрагментов дорсальных и вентральных мышц паразитов, различные электрофизиологические эффекты на мышечных клетках и мотонейроны на воздействие FMRFамид-подобных нейропептидов, а также включение разных типов рецепторов в реализацию ответа на воздействие этих нейропептидов, указывают на уникальные физиологические свойства FMRFамид-подобных нейропептидов.

В данных литературы отмечается, что, несмотря на очевидную простоту нервной системы *A. suum*, состоящей из около 300 нейронов, воздействие ряда нейропептидов, выделенных из тканей свободноживущих и паразитических нематод, на мускулатуру аскариды приводит к неоднозначным и разнообразным реакциям, в которых трудно выделить какую-либо основную физиологическую функцию.

Оценку эффектов пептидов на локомоции нематод делает еще более сложной способность рецепторов FMRFамид-подобных нейропептидов некоторых нематод (на примере *C. elegans*) связываться с пептидами, кодируемыми различными генами, и одного пептида – связываться с множеством рецепторов FMRFамид-подобных нейропептидов [10, 34].

Современная классификация нейропептидов основана на сочетании трех возможных вариантов: по химической структуре, по функциям и по месту образования нейропептидов [35, 36]. При этом авторы отмечают, что наиболее сложной является функциональная классификация.

Причиной сложности функциональной классификации нейропептидов, по мнению авторов [35, 36], является обнаруженная полифункциональность нейропептидов, которая заключается в том, что нейропептиды у животных в различных физиологических процессах могут выполнять функции медиаторов, модуляторов и нейрогормонов. Такая полифункциональность затрудняет выделение главных функций у каждого отдельного нейропептида из-за взаимного перекрывания функций между различными нейропептидами.

Уникальность индивидуальной активности регуляторных пептидов, включая нейропептиды, так сочетается с их полифункциональностью, что многие физиологические функции оказываются под контролем не одного, а сразу нескольких пептидов.

Важной особенностью нейропептидов является установленный факт того, что протеолитический распад нейропептидов, высвобождаемых из нервного окончания клетки, часто является не простым способом разрушения нейропептида, как это происходит в большинстве случаев у классических медиаторов, а часто представляет собой реакцию образования нового биологически активного соединения или соединений, активность которого может не совпадать с активностью исходного нейропептида и имеет ряд качественных отличий [35].

В то же время при исследовании протеолиза нейропептида AF1 и эффективности продуктов его деградации: Asn-Glu-Phe-Ile-Arg-Phe-NH₂, Lys-Asn-Glu + Phe-Ile-Arg-Phe-NH₂ и Lys-Asn-Glu-Phe-Ile-Arg-Phe на мышечных препаратах *Ascaris suum* было установлено, что все продукты деградации пептида AF1 были менее эффективными, чем пептид AF1 [37]. Однако этих данных явно недостаточно для какого-либо заключения о неэффективности продуктов частичного протеолиза нейропептидов у нематод.

Установлено, что продукты протеолитического разрушения нейропептидов обладают способностью к дистанционному действию, при этом важной стороной этого действия является их способность индуцировать выход других нейропептидов [35].

Обнаруженное многообразие регуляторных пептидов, в том числе, нейропептидов в организме животных, предполагает, что регуляторные пептиды вместе с другими гуморальными регуляторами образуют функциональную непрерывность – континуум, обеспечивающий реализацию любых совместимых биологических активностей [36, 38]. При этом авторы работ [35, 36, 38] отмечают, что при всей сложности действий и взаимодействий нейропептидов в большинстве случаев имеет место сочетание их прямых и опосредованных каскадных эффектов на эффекторные клетки.

Можно высказать предположение о том, что разнообразие эффектов FMRFамид-подобных нейропептидов, выделенных из свободноживущих и паразитических нематод и испытанных на фрагментах дорзальной и вентральной мускулатуры *A. suum*, а также на интактных червях, является следствием полифункциональности, то есть способности в тех или иных случаях выполнять функции либо передатчиков нервного сигнала, либо модуляторов, либо нейрогормонов и других уникальных биологических свойств нейропептидов, обнаруженных и описанных ранее у других животных [10].

Широкое распределение нейропептидов в различных нервных структурах нематод свидетельствует о фундаментальной роли, которую играют эти вещества в биологии организмов, относящихся к типу *Nemathelminthes* (класс Nematoda) [10].

Именно полифункциональность нейропептидов существенно осложняет поиск пептидергических веществ, которые вызывали бы однозначные эффекты в качестве антигельминтиков по крайней мере в ряду FMRFамид-подобных нейропептидов, выделенных из нематод. Однако интерес могут вызвать нейропептиды AF21–AF23, которые вызывают устойчивое и обратимое расслабление фрагментов мускулатуры аскариды при макрофоретической аппликации исследуемых веществ при условии, что реакция мускулатуры будет такой же однозначной, как и при методе орошения или перфузии нейропептидами целого фрагмента мускулатуры аскариды.

Известно, что нейропептиды пока не находят широкого применения в качестве лекарственных препаратов у млекопитающих, так как сроки полураспада нейропептидов в организме являются недостаточными для реализации их прямого действия. Вместе с тем отмечается, что ряд ингибиторов протеаз, будучи введенными в организм, препятствует распаду нейропептидов, обладающих лечебными свойствами [36].

Аналогичным образом можно, видимо, поступить и при оценке эффективности нейропептидов, выделенных из нематод при поиске антигельминтиков, воздействующих на локомоторное поведение паразитических нематод.

Следует отметить, что в последнее время начинают интенсивно разрабатываться новые нехимические методы контроля распространения паразитарной зараженности экономически важных групп хозяев, включающие вмешательство в функционирование генов-паразитов, кодирующих FMRFамид-подобные нейропептиды, путем метода РНК-интерференции, как это показано на примере фитонематоды *Meloidogyne incognita* [39]. Такие методы предлагаются в качестве альтернативы лекарственной в связи с известной резистентностью многих гельминтов, в том числе паразитических нематод к существующим антигельминтикам.

Работа поддержана грантами РФФИ № 14-16-00026 (Н.Б. Теренина) и РФФИ 15-04-05948а (Н.Д. Крещенко).

Литература

1. Day T.A., Maule A.G. Parasitic peptides! The structure and function of neuropeptides in parasitic worms // Peptides. – 1999. – V. 20, No 8. – P. 999–1019.

2. Atkinson H.J., Isaac R.E., Harris P.D., Sharpe C.M. FMRFamide-like immunoreactivity within the nervous system of the nematodes *Panagrellus redivivus*, *Caenorhabditis elegans* and *Heterodera glycines* // J. Zool. – 1988. – V. 216. – P. 663–671.
3. Marder E., Calabrese R.L., Nusbanm M.P., Trimmer B.A. Distribution and partial characterization of FMRFamide-like peptides in the stomatogastric nervous systems of the rock crab, *Cancer borealis*, and the spiny lobster, *Panulirus interruptus* // J. Comp. Neurol. – 1987. – V. 259, No 1. – P. 150–163.
4. Price D.A., Greenberg M.J. Structure of a molluscan cardioexcitatory neuropeptide // Science. – 1977. – V. 197. – P. 670–671.
5. Maule A.G., Mousley A., Marks N.J., Day T.A., Thompson D.P., Geary T.G., Halton D.W. Neuropeptide signaling systems – potential drug targets for parasite and pest control // Curr. Top. Med. Chem. – 2002. – V. 2, No 7. – P. 733–758.
6. Walker R.J., Papaioannou S., Holden-Dye L. A review of FMRFamide- and RFamide-like peptides in metazoa // Invertebr. Neurosci. – 2009. – V. 9, Nos 3–4. – P. 111–153. – doi: 10.1007/s10158-010-0097-7.
7. McVeigh P., Leech S., Mair G.R., Marks N.J., Geary T.G., Maule A.G. Analysis of FMRF-like peptide (FLP) diversity in phylum Nematoda // Int. J. Parasitol. – 2005. – V. 35, No 10. – P. 1043–1060.
8. Abad P., Coury J., Aury J.-M., Castagnone-Sereno P., Danchin E.G.J., Deleury E., Perfus-Barbeoch L., Anthouard V., Artiguenave F., Blok V.C., Caillaud M.C., Coutinho P.M., Dasilva C., De Luca F., Deau F., Esquibet M., Flutre T., Goldstone J.V., Hamamouch N., Hewezi T., Jaillon O., Jubin C., Leonetti P., Magliano M., Maier T.R., Markov G.V., McVeigh P., Pesole G., Poulain J., Robinson-Rechavi M., Sallet E., Ségurens B., Steinbach D., Tytgat T., Ugarte E., van Ghelder C., Veronico P., Baum T.J., Blaxter M., Blevé-Zacheo T., Davis E.L., Ewbank J.J., Favery B., Grenier E., Henrissat B., Jones J.T., Laudet V., Maule A.G., Quesneville H., Rosso M.N., Schiex T., Smant G., Weissenbach J., Wincker P. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* // Nat. Biotechnol. – 2008. – V. 26, No 8. – P. 909–1015. – doi: 10.1038/nbt.1482.
9. McCoy C.J., Atkinson L.E., Zamanian M., McVeigh P., Day T.A., Kimber M. J., Marks N.J. New insights into the FLPeric complements of parasitic nematodes: informing deorphanisation approaches // EuPA Open Proteomics. – 2014. – V. 3. – P. 262–272.
10. Peymen K., Watteyne J., Frooninckx L., Schoofs L., Beets I. The FMRFamide-like peptide family in nematodes // Front. Endocrinol. (Lausanne, Switz.). – 2014. – V. 5. – Art. 90, P. 1–21. – doi: 10.3389/fendo.2014.00090.
11. Yew J.Y., Davis R., Dikler S., Nanda J., Reinders B., Stretton A.O. Peptide products of *afp-6* gene on the nematode *Ascaris suum* have different biological actions // J. Comp. Neurol. – 2007. – V. 502, No 5. – P. 872–882. – doi: 10.1002/cne.21357.
12. Cowden C., Sithigorngul P., Brackley P., Guastella J., Stretton A.O.W. Localization and differential expression of FMRFamide-like immunoreactivity in the nematode *Ascaris suum* // J. Comp. Neurol. – 1993. – V. 333, No 3. – P. 455–468.
13. Masler E.P., Kovaleva E.S., Sardanelli S. Comparison of FaRP immunoreactivity in free-living nematodes and in the plant-parasitic nematode *Heterodera glycines* // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1999. – V. 897. – P. 253–263.
14. Cowden C., Stretton A.O.W., Davis R.E. AF1, a sequenced bioactive neuropeptide isolated from the nematode *Ascaris suum* // Neuron. – 1989. – V. 2, No 5. – P. 1465–1473.
15. Cowden C., Stretton A.O.W. AF2, nematode neuropeptide // Soc. Neurosci. Abstr. – 1990. – V. 16. – P. 305.

16. Geary T.G., Price D.A., Bowman J.W., Winterrowd C.A., Mackenzie C.D., Garrison R.D., Williams J.F., Fridman A.R. Two FMRFamide-like peptides from the free-living nematode *Panagrellus redivivus* // Peptides. – 1992. – V. 13, No 2. – P. 209–214.
17. Maule A.G., Shaw C., Bowman J.W., Halton D.W., Thompson D.P., Geary T.G., Thim L. The FMRFamide-like neuropeptide AF2 (*Ascaris suum*) is present in the free-living nematode, *Panagrellus redivivus* (Nematoda, Rhabditida) // Parasitology. – 1994. – V. 109, Pt. 3. – P. 351–356.
18. Maule A.G., Shaw C., Bowman J.W., Halton D.W., Thompson D.P., Geary T.G., Thim L. KSAYMRFamide: novel FMRFamide-related heptapeptide from the free-living nematode, *Panagrellus redivivus*, which is myoactive in the parasitic nematode, *Ascaris suum* // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1994. – V. 200, No 2. – P. 973–980.
19. Maule A.G., Shaw C., Bowman J.W., Halton D.W., Thompson D.P., Thim L., Kubiak T.M., Martin R.A., Geary T.G. Isolation and preliminary biological characterization of KPN-FIRFamide, a novel FMRFamide-related peptide from the free-living nematode, *Panagrellus redivivus* // Peptides. – 1995. – V. 16, No 1. – P. 87–93.
20. Stretton A., Donmoyer J., Davis R., Meade J., Cowden C., Sithigorngul P. Motor behavior and motor nervous system function in the nematode *Ascaris suum* // J. Parasitol. – 1992. – V. 78, No 2. – P. 206–214.
21. Franks C.J., Holden-Dye L., Williams R.G., Pang F.Y., Walker R.J. A nematode FMRFamide-like peptide, SDPNFLRFamide (PF1) relaxes the dorsal muscle strip preparation of *Ascaris suum* // Parasitology. – 1994. – V. 108, Pt. 2. – P. 229–236.
22. Geary T.G., Bowman J.W., Fridman A.R., Maule A.G., Davis J.P., Winterrowd C.A., Klein R.D., Thompson D.P. The pharmacology of FMRFamide-related neuropeptides in nematodes: new opportunities for rational anthelmintic discovery? // Int. J. Parasitol. – 1995. – V. 25, No 11. – P. 1273–1280.
23. Reinitz C.A., Herfel H.G., Messinger L.A., Stretton A.O.W. Changes in locomotory behavior and cAMP produced in *Ascaris suum* by neuropeptides from *Ascaris suum* or *Caenorhabditis elegans* // Mol. Biochem. Parasitol. – 2000. – V. 111, No 1. – P. 185–197.
24. Thompson D.P., Davis J.P., Larsen M.J., Coscarelli E.W., Zinser E.W., Bowman J.W., Alexander-Bowman S.J., Marks N.J., Greary T.G. Effects of KHEYLRFamide and KNEFIRFamide on cyclic adenosine monophosphate levels in *Ascaris suum* somatic muscle // Int. J. Parasitol. – 2003. – V. 33, No 2. – P. 199–208. – doi: 10.1016/S0020-7519(02)00259-X.
25. Kubiak T.M., Larsen M.J., Davis J.P., Zantello M.R., Bowman J. AF2 interaction with *Ascaris suum* body wall muscle membranes involves G-protein activation // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2003. – V. 301, No 2. – P. 456–459.
26. Verma S., Robertson A.P., Martin R.J. The nematode neuropeptide, AF2 (KHEYLRF-NH₂), increases voltage-activated calcium currents *Ascaris suum* muscle // Br. J. Pharmacol. – 2007. – V. 151, No 6. – P. 888–899. – doi: 10.1038/sj.bjp.0707296.
27. Cowden C., Stretton A.O.W. Eight novel FMRFamide-like neuropeptides isolated from the nematode *Ascaris suum* // Peptides. – 1995. – V. 16, No 3. – P. 491–500.
28. Holden-Dye L., Brownlee D.J., Walker R.J. The effects of peptide KPNGIRFamide (PF4) on the somatic muscle cells of the parasitic nematode *Ascaris suum* // Br. J. Pharmacol. – 1997. – V. 120, No 3. – P. 379–386.
29. Bridges T.M., Lindsley C.W. G-protein-coupled receptors: from classical modes of modulation to allosteric mechanisms // ACS Chem. Biol. – 2008. – V. 3, No 9. – P. 530–541. – doi: 10.1021/cb800116f.
30. Krishnan A., Almén M.S., Fredriksson R., Schiöth H.B. The origin of GPCRs: identification of mammalian like Rhodopsin, Adhesion, Glutamate and Frizzled GPCRs in fungi // PLoS One. – 2012. – V. 7, No 1. – Art. e29817. – doi: 10.1371/journal.pone.0029817.

31. *Frooninckx L., Van Rompay L., Temmerman L., Van Sinay E., Beets I., Janssen T., Husson S.J., Schoofs L.* Neuropeptide GPCRs in *C. elegans* // *Front. Endocrinol.* – 2012. – V. 3. – Art. 167, P. 1–18. – doi: 10.3389/fendo.2012.00167.
32. *Purcell J., Robertson A.P., Thompson D.P., Martin R.J.* PF4, a FMRFamide-related peptide, gates low-conductance Cl⁻ channels in *Ascaris suum* // *Eur. J. Pharmacol.* – 2002. – V. 456, Nos 1–3. – P. 11–17.
33. *Bowman J.W., Friedman A.R., Thompson D.P., Ichhpurani A.K., Kellman M.F., Marks N., Maule A.G., Geary T.G.* Structure-activity relationships of KNEFIRFamide (AF1), a nematode FMRFamide-related peptide, on *Ascaris suum* muscle // *Peptides.* – 1996. – V. 17, No 3. – P. 381–387.
34. *Li C., Kim K.* Neuropeptides // *WormBook.* – 2008. – P. 1–36 – doi: 10.1895/wormbook.1.142.1.
35. *Ашмарин И.П., Каменская М.А.* Нейропептиды в синаптической передаче // *Итоги науки и техники. Сер. Физиология человека и животных.* – М., 1988. – Т. 34. – 182 с.
36. *Ашмарин И.П., Стукалов П.В.* Нейрохимия. – М.: Изд-во Ин-та биомед. химии РАМН, 1996. – 469 с.
37. *Isaac R.E., MacGregor D., Coates D.* Metabolism and inactivation of neurotransmitters in nematodes // *Parasitology.* – 1996. – V. 113, Suppl. – P. S137–S173.
38. *Ашмарин И.П., Обухова М.Ф.* Регуляторные пептиды, функционально-непрерывная совокупность // *Биохимия.* – 1986. – Т. 51, Вып. 4. – С. 531–544.
39. *Papoli P.K., Gantasala N.P., Kamaraju D., Banakar P., Sreevathsa R., Rao U.* Utility of host delivered RNAi of two FMRFamide like peptides, *flp-14* and *flp-18*, for the management of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* // *PloS One.* – 2013. – V. 8, No 11. – Art. e80603, P. 1–16. – doi: 10.1371/journal.pone.0080603.

Поступила в редакцию
03.02.15

Малютина Татьяна Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Центра паразитологии, Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва, Россия.

E-mail: maliytina@mail.ru

Теренина Надежда Борисовна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Центра паразитологии, Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва, Россия.

E-mail: terenina_n@mail.ru

Крещенко Наталья Дмитриевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино, Россия.

E-mail: nkreshch@rambler.ru

* * *

NEUROPEPTIDES IN NEMATODES: PRESENCE, LOCALIZATION, AND EFFECT ON LOCOMOTOR BEHAVIOR

T.A. Malyutina, N.B. Terenina, N.D. Kreshchenko

The investigations of the presence and distribution of neuropeptides in free-living and parasitic nematodes from various systematic groups have begun in the late 1980s. As a result of numerous studies, the family of FMRFamide-like peptides (FLPs) or FMRFamide-relative peptides (FaRPs) has been identified. FLPs are relatively short peptides (typically < 20 amino acids) ending with a carboxyterminal RFamide

motif. FMRFamide-like peptides are one of the largest and most diverse neuropeptide families, which members demonstrate the structural conservatism within all types of animals, including *Nemathelminthes* (class Nematoda). It has been shown that many FMRFamide-like neuropeptides in free-living and parasitic species have a high level of structural conservatism, which does not depend on their life cycle, thereby suggesting that FLPs perform important biological functions in nematodes. The literature review is dedicated to analysis of the action of some relatively short FMRFamide-like neuropeptides isolated from free-living and zooparasitic nematodes on the locomotor behavior of the nematode *Ascaris suum*. Possible application of nematode FLPs or their synthetic structural analogs as anthelmintic drugs is discussed.

Keywords: nematodes, neuropeptides, FMRFamide-related peptide, receptors, locomotions.

References

1. Day T.A., Maule A.G. Parasitic peptides! The structure and function of neuropeptides in parasitic worms. *Peptides*, 1999, vol. 20, no. 8, pp. 999–1019.
2. Atkinson H.J., Isaac R.E., Harris P.D., Sharpe C.M. FMRFamide-like immunoreactivity within the nervous system of the nematodes *Panagrellus redivivus*, *Caenorhabditis elegans* and *Heterodera glycines*. *J. Zool.*, 1988, vol. 216, pp. 663–671.
3. Marder E., Calabrese R.L., Nusbanm M.P., Trimmer B.A. Distribution and partial characterization of FMRFamide-like peptides in the stomatogastric nervous systems of the rock crab, *Cancer borealis*, and the spiny lobster, *Panulirus interruptus*. *J. Comp. Neurol.*, 1987, vol. 259, no. 1, pp. 150–163.
4. Price D.A., Greenberg M.J. Structure of a molluscan cardioexcitatory neuropeptide. *Science*, 1977, vol. 197, pp. 670–671.
5. Maule A.G., Mousley A., Marks N.J., Day T.A., Thompson D.P., Geary T.G., Halton D.W. Neuropeptide signaling systems – potential drug targets for parasite and pest control. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2002, vol. 2, no. 7, pp. 733–758.
6. Walker R.J., Papaioannou S., Holden-Dye L. A review of FMRFamide- and RFamide-like peptides in metazoa. *Invertebr. Neurosci.*, 2009, vol. 9, nos. 3–4, pp. 111–153. doi: 10.1007/s10158-010-0097-7.
7. McVeigh P., Leech S., Mair G.R., Marks N.J., Geary T.G., Maule A.G. Analysis of FMRF-like peptide (FLP) diversity in phylum Nematoda. *Int. J. Parasitol.*, 2005, vol. 35, no. 10, pp. 1043–1060.
8. Abad P., Coury J., Aury J.-M., Castagnone-Sereno P., Danchin E.G.J., Deleury E., Perfus-Barbeoch L., Anthouard V., Artiguenave F., Blok V.C., Caillaud M.C., Coutinho P.M., Dasilva C., De Luca F., Deau F., Esquibet M., Flutre T., Goldstone J.V., Hamamouch N., Hewezi T., Jaillon O., Jubin C., Leonetti P., Magliano M., Maier T.R., Markov G.V., McVeigh P., Pesole G., Poulain J., Robinson-Rechavi M., Sallet E., Ségurens B., Steinbach D., Tytgat T., Ugarte E., van Ghelder C., Veronico P., Baum T.J., Blaxter M., Bleve-Zacheo T., Davis E.L., Ewbank J.J., Favery B., Grenier E., Henriissat B., Jones J.T., Laudet V., Maule A.G., Quesne-ville H., Rosso M.N., Schiex T., Smant G., Weissenbach J., Wincker P. Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nat. Biotechnol.*, 2008, vol. 26, no. 8, pp. 909–1015. doi: 10.1038/nbt.1482.
9. McCoy C.J., Atkinson L.E., Zamanian M., McVeigh P., Day T.A., Kimber M. J., Marks N.J. New insights into the FLPeric complements of parasitic nematodes: informing deorphanisation approaches. *EuPA Open Proteomics*, 2014, vol. 3, pp. 262–272.
10. Peymen K., Watteyne J., Frooninckx L., Schoofs L., Beets I. The FMRFamide-like peptide family in nematodes. *Front. Endocrinol. (Lausanne, Switz.)*, 2014, vol. 5, art. 90, pp. 1–21. doi: 10.3389/fendo.2014.00090.
11. Yew J.Y., Davis R., Dikler S., Nanda J., Reinders B., Stretton A.O. Peptide products of *afp-6* gene on the nematode *Ascaris suum* have different biological actions. *J. Comp. Neurol.*, 2007, vol. 502, no. 5, pp. 872–882. doi: 10.1002/cne.21357.
12. Cowden C., Sithigorgul P., Brackley P., Guastella J., Stretton A.O.W. Localization and differential expression of FMRFamide-like immunoreactivity in the nematode *Ascaris suum*. *J. Comp. Neurol.*, 1993, vol. 333, no. 3, pp. 455–468.
13. Masler E.P., Kovaleva E.S., Sardanelli S. Comparison of FaRP immunoreactivity in free-living nematodes and in the plant-parasitic nematode *Heterodera glycines*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1999, vol. 897, pp. 253–263.
14. Cowden C., Stretton A.O.W., Davis R.E. AF1, a sequenced bioactive neuropeptide isolated from the nematode *Ascaris suum*. *Neuron*, 1989, vol. 2, no. 5, pp. 1465–1473.

15. Cowden C., Stretton A.O.W. AF2, nematode neuropeptide. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 1990, vol. 16, 305 p.
16. Geary T.G., Price D.A., Bowman J.W., Winterrowd C.A., Mackenzie C.D., Garrison R.D., Williams J.F., Fridman A.R. Two FMRFamide-like peptides from the free-living nematode *Panagrellus redivivus*. *Peptides*, 1992, vol. 13, no. 2, pp. 209–214.
17. Maule A.G., Shaw C., Bowman J.W., Halton D.W., Thompson D.P., Geary T.G., Thim L. The FMRFamide-like neuropeptide AF2 (*Ascaris suum*) is present in the free-living nematode, *Panagrellus redivivus* (Nematoda, Rhabditida). *Parasitology*, 1994, vol.109, pt. 3, pp. 351–356.
18. Maule A.G., Shaw C., Bowman J.W., Halton D.W., Thompson D.P., Geary T.G., Thim L. KSAYMRFamide: novel FMRFamide-related heptapeptide from the free-living nematode, *Panagrellus redivivus*, which is myoactive in the parasitic nematode, *Ascaris suum*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994, vol. 200, no. 2, pp. 973–980.
19. Maule A.G., Shaw C., Bowman J.W., Halton D.W., Thompson D.P., Thim L., Kubiak T.M., Martin R.A., Geary T.G. Isolation and preliminary biological characterization of KPNFIRFamide, a novel FMRFamide-related peptide from the free-living nematode, *Panagrellus redivivus*. *Peptides*, 1995, vol. 16, no. 1, pp. 87–93.
20. Stretton A., Donmoyer J., Davis R., Meade J., Cowden C., Sithigorngul P. Motor behavior and motor nervous system function in the nematode *Ascaris suum*. *J. Parasitol.*, 1992, vol. 78, no. 2, pp. 206–214.
21. Franks C.J., Holden-Dye L., Williams R.G., Pang F.Y., Walker R.J. A nematode FMRFamide-like peptide, SDPNFLRFamide (PF1) relaxes the dorsal muscle strip preparation of *Ascaris suum*. *Parasitology*, 1994, vol. 108, pt. 2, pp. 229–236.
22. Geary T.G., Bowman J.W., Fridman A.R., Maule A.G., Davis J.P., Winterrowd C.A., Klein R.D., Thompson D.P. The pharmacology of FMRFamide-related neuropeptides in nematodes: new opportunities for rational anthelmintic discovery? *Int. J. Parasitol.*, 1995, vol. 25, no. 11, pp. 1273–1280.
23. Reinitz C.A., Herfel H.G., Messinger L.A., Stretton A.O.W. Changes in locomotory behavior and cAMP produced in *Ascaris suum* by neuropeptides from *Ascaris suum* or *Caenorhabditis elegans*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 2000, vol. 111, no. 1, pp. 185–197.
24. Thompson D.P., Davis J.P., Larsen M.J., Coscarelli E.W., Zinser E.W., Bowman J.W., Alexander-Bowman S.J., Marks N.J., Geary T.G. Effects of KHEYLRFamide and KNEFIRFamide on cyclic adenosine monophosphate levels in *Ascaris suum* somatic muscle. *Int. J. Parasitol.*, 2003, vol. 33, no. 2, pp. 199–208. doi: 10.1016/S0020-7519(02)00259-X.
25. Kubiak T.M., Larsen M.J., Davis J.P., Zantello M.R., Bowman J. AF2 interaction with *Ascaris suum* body wall muscle membranes involves G-protein activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, vol. 301, no. 2, pp. 456–459.
26. Verma S., Robertson A.P., Martin R.J. The nematode neuropeptide, AF2 (KHEYLRF-NH₂), increases voltage-activated calcium currents *Ascaris suum* muscle. *Br. J. Pharmacol.*, 2007, vol. 151, no. 6, pp. 888–899. doi: 10.1038/sj.bjp.0707296.
27. Cowden C., Stretton A.O.W. Eight novel FMRFamide-like neuropeptides isolated from the nematode *Ascaris suum*. *Peptides*, 1995, vol. 16, no. 3, pp. 491–500.
28. Holden-Dye L., Brownlee D.J., Walker R.J. The effects of peptide KPNGIRFamide (PF4) on the somatic muscle cells of the parasitic nematode *Ascaris suum*. *Br. J. Pharmacol.*, 1997, vol. 120, no. 3, pp. 379–386.
29. Bridges T.M., Lindsley C.W. G-protein-coupled receptors: from classical modes of modulation to allosteric mechanisms. *ACS Chem. Biol.*, 2008, vol. 3, no. 9, pp. 530–541. doi: 10.1021/cb800116f.
30. Krishnan A., Almén M.S., Fredriksson R., Schiöth H.B. The origin of GPCRs: identification of mammalian like Rhodopsin, Adhesion, Glutamate and Frizzled GPCRs in fungi. *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 1, art. e29817. doi: 10.1371/journal.pone.0029817.
31. Frootinckx L., Van Rompay L., Temmerman L., Van Sinay E., Beets I., Janssen T., Husson S.J., Schoofs L. Neuropeptide GPCRs in *C. elegans*. *Front. Endocrinol.*, 2012, vol. 3, art. 167, pp. 1–18. doi: 10.3389/fendo.2012.00167.
32. Purcell J., Robertson A.P., Thompson D.P., Martin R.J. PF4, a FMRFamide-related peptide, gates low-conductance Cl⁻ channels in *Ascaris suum*. *Eur. J. Pharmacol.*, 2002, vol. 456, nos. 1–3, pp. 11–17.

33. Bowman J.W., Friedman A.R., Thompson D.P., Ichhpurani A.K., Kellman M.F., Marks N., Maule A.G., Geary T.G. Structure-activity relationships of KNEFIRFamide (AF1), a nematode FMRFamide-related peptide, on *Ascaris suum* muscle. *Peptides*, 1996, vol. 17, no. 3, pp. 381–387.
34. Li C., Kim K. Neuropeptides. *WormBook*, 2008, pp. 1–36. doi: 10.1895/wormbook.1.142.1.
35. Ashmarin I.P., Kamenskaja M.A. Neuropeptides in the synaptic transmission. *Itogi nauki i tekhniki. Ser. Fiziologiya cheloveka i zhivotnykh* [Results of Science and Technology. Human and Animal Physiology Series]. Moscow, VINITI, 1988, vol. 34. 182 p. (In Russian)
36. Ashmarin I.P., Stukalov P.V. Neurochemistry. Moscow, Izd. Inst. Biomed. Khim. Ross. Akad. Med. Nauk, 1996. 469 p. (In Russian)
37. Isaac R.E., MacGregor D., Coates D. Metabolism and inactivation of neurotransmitters in nematodes. *Parasitology*, 1996, vol. 113, suppl., pp. S137–S173.
38. Ashmarin I.P., Obukhova M.F. Regulatory peptides, functionally continuous totality. *Biokhimiya*, 1986, vol. 51, iss. 4, pp. 531–544. (In Russian)
39. Papolu P.K., Gantasala N.P., Kamaraju D., Banakar P., Sreevathsa R., Rao U. Utility of host delivered RNAi of two FMRFamide like peptides, *flp-14* and *flp-18*, for the management of root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *PloS One*, 2013, vol. 8, no. 11, art. e80603, pp. 1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0080603.

Received
February 3, 2015

Malyutina Tat'yana Anatol'evna – PhD in Biology, Senior Research Fellow, Center of Parasitology, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.
E-mail: maliytina@mail.ru

Terenina Nadezhda Borisovna – Doctor of Biology, Leading Research Fellow, Center of Parasitology, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.
E-mail: terenina_n@mail.ru

Kreshchenko Natal'ya Dmitrievna – PhD in Biology, Senior Research Fellow, Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia.
E-mail: nkreshch@rambler.ru