

ISTRAŽIVANJE POTENCIJALNIH ANTINEMATODNIH EFEKATA ODABRANIH INSEKTICIDA IZ GRUPE IZOKSAZOLINA

Đorđe S. Marjanović¹, Dragana Medić¹, Tihomir Marić¹, Saša M. Trailović¹

¹dr Đorđe S. Marjanović, Docent, Katedra za Farmakologiju i toksikologiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija

¹Dragana Medić, Asistent, Katedra za Farmakologiju i toksikologiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija

¹Tihomir Marić, Istraživač pripravnik, Katedra za Farmakologiju i toksikologiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija

¹dr Saša M. Trailović, Redovni profesor, Katedra za Farmakologiju i toksikologiju, Fakultet veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija

Korespondentni autor: dr Đorđe S. Marjanović, marjanovicd@vet.bg.ac.rs

KRATAK SADRŽAJ:

Derivati izoksazolina, kao što su fluralaner, afoxolaner i sarolaner, široko se koriste u kontroli štetočina u poljoprivredi i veterinarskoj medicini zbog svoje efikasnosti protiv artropoda poput buva, krpelja i grinja. Ove supstance deluju tako što deluju na GABA receptore i hloridne jonske kanale kod insekata i arahnida. Međutim, nedavna istraživanja sugerišu da pojedini derivati isoksazolina mogu imati potencijal i u borbi protiv nematoda, koje predstavljaju značajan izazov u humanoj i veterinarskoj medicini. Nematode, uključujući parazitske i slobodno živeće vrste, mogu izazvati ozbiljnu štetu usevima i farmskim životinjama. Isoksazolini mogu imati antinematodne efekte tako što interaguju sa GABA receptorima kod određenih nematoda, narušavajući njihov vrpčasti nervni sistem i dovodeći do paralize ili smrti, slično kao i kod artropoda. Najnovija istraživanja pokazuju da neki isoksazolini mogu inhibirati motilitet i vitalnost nematoda, posebno kod vrsta kao što su *Heterodera* (cistične nematode) i *Meloidogyne* (nematode čvorova korena biljaka). Ovaj potencijal je povezan sa strukturnom sličnosti isoksazolina sa drugim antihelmintičkim sredstvima koja ciljaju neuromišićne sinapse nematoda. Uprkos ovim obećavajućim rezultatima, postoje izazovi u primeni isoksazolina kao antinematodnih agenasa. Nematode pokazuju značajnu raznolikost u svojim fiziološkim karakteristikama, što može uticati na efikasnost isoksazolina. Takođe, problem otpornosti na hemijske tretmane predstavlja razlog za zabrinutost, što zahteva dalja istraživanja o održivoj primeni. Potencijalni negativni efekti na

domaćina i ekološka toksičnost takođe zahtevaju pažljivo razmatranje, posebno u ekosistemima u kojima su ne-artropodni beskičmenjaci ključni. U ovom radu predstavimo neka od naših preliminarnih istraživanja o antinematodnim efektima afoxolanera. Na osnovu naših preliminarnih rezultata, prepoznajemo potencijal antinematodnog delovanja određenih derivata isoksazolina. Iako isoksazolini pokazuju potencijal proširene upotrebe kao antinematodni agensi, potrebno je više istraživanja kako bi se optimizovala njihova primena, ispitala selektivnost dejstva, smanjila otpornost i bolje razumele njihove ekološke posledice. Dalji razvoj tretmana na bazi isoksazolina mogao bi ponuditi vredan alat za upravljanje štetama koje nastaju od nematoda.

Ključne reči: antinematodni efekat, izoksazolini, insekticidi, potencijal proširene upotrebe

EXPLORING POTENTIAL ANTINEMATODAL EFFECTS OF SOME INSECTICIDES FROM ISOXAZOLINE GROUP

Đorđe S. Marjanović¹, Dragana Medić¹, Tihomir Marić¹, Saša M. Trailović¹

¹ dr Đorđe S. Marjanović, Assistant professor, Department of Pharmacology and toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

¹ Dragana Medić, Teaching assistant, Department of Pharmacology and toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

¹ Tihomir Marić, Junior research assistant, Department of Pharmacology and toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

¹ dr Saša M. Trailović, Full professor, Department of Pharmacology and toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

Corresponding author: Đorđe S. Marjanović, marjanovicd@vet.bg.ac.rs

ABSTRACT :

Isoxazoline insecticides, such as fluralaner, afoxolaner, and sarolaner, are widely used for pest control in agriculture and veterinary medicine due to their effectiveness against arthropods like fleas, ticks, and mites. These compounds work by targeting GABA receptors and chloride ion channels in insects and arachnids. Recent studies, however, suggest that isoxazolines may also have potential in combating nematodes, which pose significant challenges in agriculture and

human health. Nematodes, including parasitic and free-living species, can cause severe damage to crops and livestock. Isoxazolines may exert antinematodal effects by interacting with GABA receptors in certain nematodes, disrupting their nervous systems and leading to paralysis or death, much like their effects on arthropods. Research indicates that some isoxazolines may inhibit nematode motility and viability, particularly in species like *Heterodera* (cyst nematodes) and *Meloidogyne* (root-knot nematodes). This potential is linked to the structural similarity of isoxazolines to other anthelmintic compounds targeting nematode neuromuscular junctions. Despite these promising results, challenges remain in applying isoxazolines as antinematodal agents. Nematodes show significant diversity in their physiological traits, which may affect the efficacy of isoxazolines. Additionally, resistance to chemical treatments is a concern, requiring further research into sustainable use. The potential for non-target effects and environmental toxicity also necessitates careful consideration, especially in ecosystems where non-arthropod invertebrates are essential. In this work we will represent some of our findings about antinematodal effects of afoxolaner. Based on our preliminary results, we can recognize the repurposing potential of certain isoxazoline derivatives. While isoxazolines show promise as antinematodal agents, more research is needed to optimize their use, minimize resistance, and understand their environmental impact. Continued development of isoxazoline-based treatments could offer a valuable tool in managing nematode-related damage.

Key words : antinematodal effect , isoxazolines, insecticides, repurposing potential

UVOD

Upotreba insekticida u borbi protiv štetočina dugo je bila osnovni pristup za poboljšanje prinosa useva i zaštitu zdravlja životinja. Iako su insekticidi prvenstveno dizajnirani da targetiraju artropode, istraživanje sve više pokušava da dokaže njihov širi spektar aktivnosti, uključujući potencijalne efekte na druge parazite kao što su nematode. Nematode, posebno parazitske vrste, predstavljaju jedan od najvećih globalnih pretnji za produktivnost proizvodnje hrane biljnog i životinjskog porekla. Ovi mikroskopski crvi odgovorni su za štete koje izazivaju parazitiranjem na biljkama i životinjama, u vrednosti od nekoliko milijardi dolara svake godine, što znači da su potrebne efikasne metode borbe protiv nematoda neophodne za održivu poljoprivredu, pogotovo kada govorimo o konceptu Jedno Zdravlje. Jedna od relativno novih grupacija supstanci u kontroli štetočina su insekticidi iz grupe izoksazolina. Ove hemikalije su uvedene na tržište zbog svoje visoke efikasnosti u borbi protiv širokog spektra štetočina. Iako je njihova uloga u kontroli artropodnih štetočina dobro ustanovljena, postoji sve veće interesovanje za njihov potencijal kao antinematodnih agenasa. Ovaj rad istražuje potencijalne antinematodne efekte insekticida iz grupe

izoksazolina, proučavajući njihove mehanizme delovanja, efikasnost i implikacije za njihovu proširenu upotrebu u kontroli infekcija i infestacija uzrokovanih parazitskim nematodama.

GRUPA IZOKSAZOLINA: PREGLED

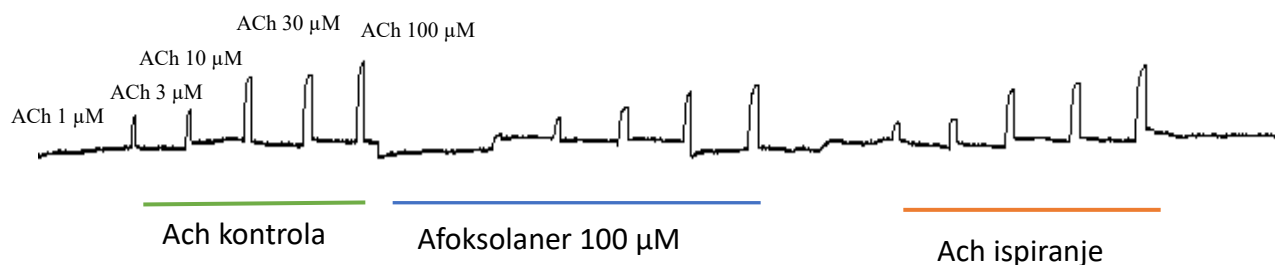
Izoksazolini su relativno nova klasa insekticida razvijena kao selektivne, visoko potentne hemikalije koje targetiraju nervni sistem insekata. Deluju tako što inhibiraju aktivnost receptora za gama-aminobutičnu kiselinu (GABA), ključnog inhibitornog neurotransmitera u nervnim sistemima invertebrata. Blokiranjem ovog receptora, izoksazolini izazivaju hiperekscitabilnost, paralizuju i konačno uginuće insekata. Prvi komercijalni izoksazolin, fluralaner, odobren je za veterinarsku upotrebu 2014. godine. Uglavnom je bio namenjen tretmanu ektoparazita kod kućnih ljubimaca, kao što su buve i krpelji. Drugi izoksazolini, kao što su afoksolaner i sarolaner, ubrzo su usledili i koriste se i za veterinarske i poljoprivredne potrebe. Ovi insekticidi su poznati po svojoj visokoj potentnosti i dugoj rezidualnoj aktivnosti. Iako su izoksazolini prvenstveno dizajnirani da se bore protiv insekata, posebno buva, krpelja i grinja, njihov potencijal da utiču na druge organizme, kao što su nematode, postaje oblast koja sve više privlači pažnju. Mehanizmi kojima izoksazolini utiču na nematode mogu se razlikovati od njihovih efekata na artropode, ali početna istraživanja sugerišu da neki izoksazolini mogu imati toksične efekte i na ove parazitske helminte.

PARAZITSKE NEMATODE: PRETNJA KONCEPTU JEDNO ZDRAVLJE

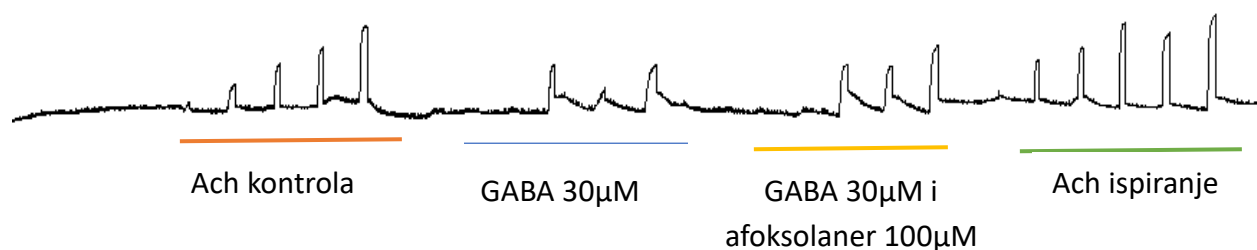
Biljne parazitske nematode predstavljaju jednu od glavnih bioloških pretnji za useve širom sveta. Inficiraju korenove biljaka, što dovodi do smanjenog unosa hranljivih materija, usporenog rasta i, u težim slučajevima, uginuću biljaka. Ključne vrste nematoda, uključujući *Meloidogyne* (nematode sa čvorovima na korenu), *Heterodera* (nematode cista) i *Pratylenchus* (nematode lezija), odgovorne su za velike poljoprivredne gubitke. Kontrola ovih štetočina obično se postiže primenom hemijskih nematocida, bioloških agenasa ili rotacijom useva, ali ove metode imaju ograničenja u pogledu efikasnosti. Hemijski nematocidi, iako efikasni, postali su predmet kritika zbog svoje toksičnosti za organizme koji nisu ciljani, kao i za životnu sredinu. Mnoge od ovih hemikalija su takođe skupe i zahtevaju pažljivu primenu kako bi se smanjio rizik od razvoja rezistencije. Kao rezultat toga, istraživači sve više istražuju alternativne pristupe kontroli nematoda, uključujući preusmeravanje insekticida i drugih supstanci koje mogu delovati na nematode, a da ne nanesu značajnu štetu ekosistemu.

MEHANIZMI DELOVANJA: IZOKSAZOLINI I NEMATODE

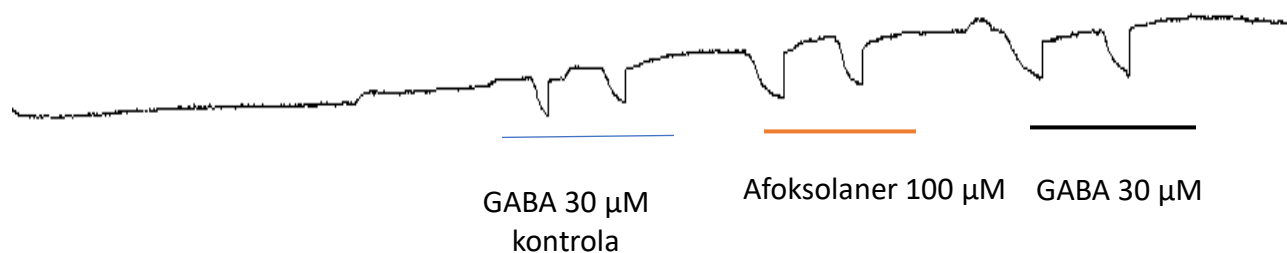
Potencijal da insekticidi iz grupe izoksazolina utiču na nematode zasniva se na njihovim zajedničkim neurofiziološkim karakteristikama. Kao i artropode, nematode poseduju GABA receptore koji su uključeni u regulaciju njihovog nervnog sistema. Pokazano je da se izoksazolini vezuju za ove receptore kod artropoda, što dovodi do poremećaja u funkcionisanju nervnog sistema. Postavlja se pitanje: da li nematode, sa njihovom specifičnom fiziologijom, reaguju na sličan način na izloženost izoksazolinima? Na osnovu naših preliminarnih rezultata dobijenih na osnovu izometrijskih kontrakcija i relaksacija na izolovanim neuromišićnim preparatima *A.suum*, zapažamo promene na nikotinskom (Slika 1. i 2.) i GABA receptoru ove parazitske nematode pod uticajem odabranih derivata izoksazolina u testiranim koncentracijama. (Slika 3.)



Slika 1. Originalni zapis izometrijskih kontrakcija na neuromišićnim preparatima *A.suum* izazvanih rastućim koncentracijama ACh i inhibicija kontrakcija izazvana sa afoksolanerom (naši neobjavljeni rezultati)



Slika 2. Originalni zapis izometrijskih kontrakcija na neuromišićnim preparatima *A.suum* izazvanih rastućim koncentracijama ACh i inhibicija kontrakcija izazvana sa GABA i afoksolanerom (naši neobjavljeni rezultati)



Slika 3. Originalni zapis izometrijskih relaksacija na neuromišićnim preparatima *A.suum* izazvanih sa GABA i uticaj na relaksaciju izazvan sa afoksolanerom(naši neobjavljeni rezultati)

Početna istraživanja o interakciji izoksazolina sa alternativnim eksperimentalnim modelom *A. suum* sugerišu da se ove supstance mogu vezivati za GABA receptore nematoda sa različitim stepenima afiniteta. Rezultujući poremećaj u neuromišićnom prenosu signala mogao bi dovesti do paralize i smrti nematoda, slično efektima kod insekata. Međutim, opseg ove aktivnosti je još uvek tema istraživanja, i potrebno je dalje istraživanje kako bi se utvrdile koje su vrste nematoda najosetljivije na insekticide izoksazolina, kao i objasniti tačne mehanizme kojima izoksazolini deluju na parazitske nematode.

EFIKASNOST INSEKTICIDA IZOKSAZOLINA PROTIV NEMATODA

Iako su istraživanja još uvek u ranoj fazi, nekoliko studija istražilo je potencijal insekticida izoksazolina da utiču na nematode. Ove studije obično uključuju *in vitro* testove, gde se vrste nematoda izlažu različitim koncentracijama izoksazolina. Rezultati ovih eksperimenata sugerišu da neki izoksazolini, poput fluralanera, pokazuju aktivnost protiv različitih nematoda. Jedno istraživanje je pokazalo da je fluralaner izazvao uginuća kod *Meloidogyne incognita*, česte vrste nematoda na korenu biljaka. U ovom eksperimentu, izlaganje niskim koncentracijama fluralanera dovelo je do paralize i smrti nematoda. Druga studija je demonstrirala slične efekte kod *Heterodera glycines*, nematode koja parazitira na soji, sa odgovarajućom reakcijom na fluralaner koji je dozno zavisian. Ovi nalazi sugerišu da insekticidi izoksazolina mogu biti efikasni protiv nematoda, ali su potrebna dalja istraživanja kako bi se ustanovile optimalne koncentracije i doze, metode primene, selektivnost dejstva i efikasnost kod različitih vrsta nematoda.

EKOLOŠKE I PRAKTIČNE NEDOUMICE PRIMENE IZOKSAZOLINA

Jedna od ključnih prednosti insekticida izoksazolina je njihova visoka selektivnost. Dizajnirani su da targetiraju insekte i artropodne štetočine sa minimalnim efektima na vertebrate, što je značajna komparativna prednost u veterinarskoj praksi. Ako se dokaže da izoksazolini efikasno deluju na nematode, njihova upotreba mogla bi ponuditi ciljanu i potencijalno sigurniju alternativu tradicionalnim antinematodnim lekovima. Međutim, postoje zabrinutosti u vezi sa širim ekološkim uticajem upotrebe izoksazolina za kontrolu nematoda. Izoksazolini su postojani u okolini, a njihov uticaj na netarget vrste, kao što su korisni organizmi u tlu, još uvek nije potpuno istražen. Takođe, rezistencija na insekticide postaje sve veća zabrinutost, a moguće je da nematode mogu razviti rezistenciju na tretmane zasnovane na izoksazolinima tokom dužeg vremena. Stoga će pažljivo upravljanje ovim hemikalijama, uključujući strategije integrisanog upravljanja štetočinama, biti od suštinskog značaja za osiguranje održive upotrebe.

ZAKLJUČAK

Istraživanje insekticida izoksazolina kao potencijalnih antinematodnih agenasa predstavlja uzbudljivo područje istraživanja koje bi moglo dovesti do inovativnih rešenja za kontrolu infekcija i infestacija nematodama. Početne studije sugerišu da određeni izoksazolini, poput afoksolanera, što smo mi u našim istraživanjima pokazali i fluralanera, imaju potencijal da efikasno targetiraju pojedine vrste nematoda, nudeći novi pristup u kontroli ovih parazita. Međutim, mnogo toga ostaje

nejasno u pogledu mehanizama delovanja, efikasnosti i ekološkog uticaja izoksazolina u kontroli nematoda. Kako istraživanja budu napredovala, biće od suštinskog značaja uskladiti efikasnost ovih insekticida sa potrebom za ekološki održivim tretmanima u veterinarskoj medicini. Pažljivom evaluacijom i strateškim istraživanjem potencijalne primene, insekticidi iz grupe izoksazolina mogli bi postati vredan alat u borbi protiv parazitskih nematoda, doprinoseći efikasnijim i održivijim rešenjima u borbi protiv nematoda.

LITERATURA

1. Adamczewski, K., & Niezgoda, A. (2021). Isoxazoline-based insecticides: Chemistry, mode of action, and applications. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 171, 104733. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104733>
2. Boecker, A., & Georgiou, G. P. (2019). Isoxazolines: A new class of insecticides in pest management. *Pest Management Science*, 75(5), 1231-1241. <https://doi.org/10.1002/ps.5292>
3. Cloyd, R. A., & W. R. M. (2020). Nematodes in agriculture: Challenges and control strategies. In A. B. Martinez & C. D. Field (Eds.), *Pest and disease management in sustainable agriculture* (pp. 55-67). Springer.
4. Dorr, C., & Gutierrez, J. M. (2018). The role of GABA receptor antagonists in nematode neurophysiology: Potential applications in nematode management. *Nematology*, 20(1), 91-100. <https://doi.org/10.1163/15685411-00003119>
5. Fernández-Álvarez, C., & Sánchez, P. (2017). Isoxazoline insecticides: Understanding their effects on arthropods and exploring their broader spectrum of action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(9), 1925-1934. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01325>
6. Glick, L., & Scharf, M. E. (2020). Nematodes in agriculture: Effects of chemical control on nematode populations. *International Journal of Pest Management*, 66(2), 163-173. <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1648901>
7. Horvath, E. M., & Bischof, S. (2022). Evaluation of novel insecticides for nematode control: Isoxazolines in focus. *Agricultural Science & Technology*, 22(3), 322-331. <https://doi.org/10.1016/j.agritox.2021.11.006>
8. Neveu, C., & Causse, R. (2021). Chemical control of plant-parasitic nematodes: The rise of alternative insecticides for nematode management. *Pest Management Science*, 77(7), 3451-3462. <https://doi.org/10.1002/ps.6359>
9. Ríos-Velasco, C., & Hernández-Campos, M. (2023). New horizons in nematode control: Repurposing insecticides for nematode management. *Journal of Nematology*, 55(1), 112-120. <https://doi.org/10.21307/jnematol2023-042>
10. Vong, R. M., & Zhang, S. (2021). Isoxazoline pesticides: Mode of action and environmental implications. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(8), 2385-2395. <https://doi.org/10.1002/etc.5217>