

## L'ESTRATTO STANDARDIZZATO DI RADICE DI WITHANIA SOMNIFERA DUNAL INDUCE ALTERAZIONI DELL'ESPRESSIONE GENICA DEI RECETTORI OPIOIDI E MODIFICA GLI EFFETTI INDOTTI DALLA MORFINA.

L. Rullo<sup>1</sup>, F.F. Caputi<sup>1</sup>, S. Stamatakos<sup>1</sup>, E. Acquas<sup>2</sup>, S. Candeletti<sup>1</sup>, P. Romualdi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna, Italia*

<sup>2</sup>*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università di Cagliari, Cagliari, Italia*

La *Withania somnifera* è un arbusto appartenente alla famiglia delle Solenaceae, conosciuta per le sue molteplici proprietà tra cui si evidenzia quella antiossidante che contribuisce agli effetti antistress, immunomodulatori e antinfiammatori (1). Recenti evidenze scientifiche hanno dimostrato la capacità dell'estratto di radice di *Withania somnifera* (WSE) di ridurre l'insorgenza di tolleranza all'effetto analgesico prodotto dalla morfina (2) e di prolungarne anche l'effetto analgesico (3); tuttavia sono ancora da chiarire i meccanismi molecolari che ne sottendono le azioni.

Considerando che lo sviluppo della tolleranza e della dipendenza fisica sono effetti collaterali degli analgesici oppiacei che ne limitano il loro utilizzo, la comprensione dei meccanismi d'azione attraverso i quali la *Withania somnifera* esercita i propri effetti può essere utile al fine di migliorare il trattamento farmacologico del dolore cronico. Sulla base di queste premesse, lo scopo della presente ricerca è stato quello di valutare gli effetti indotti dalla WSE sull'espressione genica del recettore oppioidi  $\mu$  (MOP) e del recettore per la nocicettina (NOP) in una linea cellulare di neuroblastoma umano, SH-SY5Y.

A tale scopo, è stato valutato l'effetto della WSE nell'intervallo di concentrazioni compreso tra 0.1 e 1.00 mg / ml ai tempi di esposizione di 5, 24 e 48 h sulla vitalità cellulare, mediante il saggio MTT.

Avendo osservato che la WSE non produce effetti di neurotossicità dopo 5h di esposizione, è stato utilizzato questo *time point* per effettuare gli studi successivi. Le cellule sono state trattate con morfina 10  $\mu$ M, naloxone 100  $\mu$ M e WSE a diverse concentrazioni (0.25, 0.50 e 1.00 mg / ml), utilizzati sia da soli che in associazione. L'analisi dell'espressione genica è stata eseguita mediante *real time* qPCR e valutata mediante il metodo Delta-Delta Ct (2-DDCt).

I risultati hanno mostrato una significativa riduzione dell'espressione genica del MOP (0.17 $\pm$ 0.01 vs. control 1.00 $\pm$ 0.11; p < 0.05) e del NOP (0.66 $\pm$ 0.03 vs. control 1.00 $\pm$ 0.14; p < 0.05) indotta dalla morfina. Al contrario, il naloxone induce una *up-regulation* dei livelli di mRNA per entrambi i recettori (2.27 $\pm$ 0.25 vs. control 1.00 $\pm$ 0.16; p < 0.01; 3.10 $\pm$ 0.39 vs. control 1.00 $\pm$ 0.14; p < 0.01, rispettivamente). La co-esposizione a morfina e naloxone previene le alterazioni dell'espressione genica indotte dalla morfina sui livelli di mRNA codificanti per il recettore MOP e NOP.

È interessante osservare che la WSE da sola è in grado di ridurre in maniera significativa i livelli di espressione del recettore MOP a tutte le concentrazioni utilizzate (0.20 $\pm$ 0.01, 0.10 $\pm$ 0.01, 0.43 $\pm$ 0.01 rispettivamente vs. control 1.00 $\pm$ 0.04; p < 0.01); non è stata osservata alcuna alterazione indotta dalla WSE sull'espressione genica del NOP.

La WSE, alla sua massima concentrazione, è in grado di contrastare la *down-regulation* del MOP indotta dalla morfina e ostacolare anche la *up-regulation* del MOP e del NOP indotta dal naloxone. I dati ottenuti indicano per la prima volta la capacità della WSE di influenzare l'espressione dei geni che codificano per i recettori oppioidi MOP e NOP nelle cellule SH-SY5Y. Inoltre, questi risultati

suggeriscono che la modulazione in vivo dell'analgesia indotta dalla morfina da parte della WSE, potrebbe essere correlata alla capacità di quest'ultima di ostacolare, alla sua massima concentrazione, la *down-regulation* del recettore oppioide provocata dalla morfina.

**Bibliografia:**

- 1) Mishra et al. (2000). *Altern Med Rev.* 5:334-46.
- 2) Kulkarni and Ninan (1997). *J Ethnopharmacol.* 57:213-7.
- 3) Orrù et al. (2014). *Phytomedicine.* 21:745-52.