

Toksičnost metamfetamina

Stjepanović, Slavica

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:393027>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-27**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Sveučilišni preddiplomski studij kemije

Slavica Stjepanović

Toksičnost metamfetamina

Završni rad

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Mirela Samardžić

Osijek, 2023.

SAŽETAK

Toksičnost metamfetamina odnosi se na štetne učinke uzrokovane zlouporabom ili predoziranjem metamfetaminom, snažnim lijekom za stimulaciju središnjeg živčanog sustava. Ovaj rad daje pregled toksičnosti metamfetamina, uključujući njegovo farmakološko djelovanje, kliničke manifestacije i liječenje.

Metamfetamin izražava svoje toksične učinke povećanjem oslobađanja i inhibicijom ponovnog preuzimanja neurotransmitera kao što su dopamin (DA), norepinefrin i serotonin (5HT) u mozgu, što dovodi do kaskade fizioloških odgovora. Akutna toksičnost metamfetamina može rezultirati širokim rasponom simptoma, uključujući intenzivnu euforiju, povećanu energiju, uznemirenost, paranoju, halucinacije, ubrzan rad srca i povišen krvni tlak, hipertermiju, proširene zjenice i napadaje. U teškim slučajevima može dovesti do kardiovaskularnog kolapsa, rabdomiolize, zatajenja bubrega pa čak i smrti.

Ključne riječi: amfetamini, metafetamin, toksičnost, neurotransmiteri

ABSTRACT

Methamphetamine toxicity refers to the adverse effects caused by the misuse or overdose of methamphetamine, a powerful central nervous system stimulant. This paper provides an overview of methamphetamine toxicity, including its pharmacological actions, clinical manifestations, and treatment.

Methamphetamine exerts its toxic effects by increasing the release and inhibiting the reuptake of neurotransmitters such as dopamine (DA), norepinephrine, and serotonin in the brain, leading to a cascade of physiological responses. Acute methamphetamine toxicity can result in a wide range of symptoms, including intense euphoria, increased energy, agitation, paranoia, hallucinations, increased heart rate and high blood pressure, hyperthermia, dilated pupils, and seizures. In severe cases, it can lead to cardiovascular collapse, rhabdomyolysis, kidney failure and even death.

Keywords: amphetamines, methamphetamine, toxicity, neurotransmitters

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Klasifikacija.....	2
3. Metamfetamin.....	3
3.1. Kemijska struktura i odnos strukture i aktivnosti.....	3
3.2. Mehanizam djelovanja	4
3.3. Povijest i sinteza kristalnog metamfetamina	5
4. Neurotoksičnost metamfetamina	7
4.1. Akutni učinci visokih doza.....	7
4.2. Dugotrajni učinci malih doza	7
4.3. Gliozna uzrokovana uporabom metamfetamina.....	8
4.4. Stanična smrt uzrokovana uporabom metamfetamina	9
4.5. Metamfetamin i HIV-1	10
5. Metabolizam neurotoksičnosti.....	12
5.1. Višak dopamina.....	12
5.2. Disfunkcija ubikvitin-proteasomskog sustava (UPS).....	12
5.3. Nitracija proteina.....	13
5.4. Stres endoplazmatskog retikuluma (ERS).....	14
5.5. Ekspresija p53	15
5.6. D ₃ receptor	15
6. Liječenje neurotoksičnosti.....	17
6.1. Minociklin.....	17
6.2. Parkin	17
6.3. Kolecistokinin	18
6.4. Genska terapija.....	18
6.5. Endokanabinoidni sustav.....	19
7. Zaključak	20
8. Literatura	21

1. Uvod

Otrovanja su stanja organizma izazvana otrovima, tj. supstancama ili tvarima koje su, obzirom na kvalitetu, količinu ili koncentraciju, tijelu strane, a unesene na bilo koji način u tijelo djeluju kemijski ili fizikalno-kemijski remeteći anatomsku strukturu i funkcijski sklad organa. Znanost koja se bavi proučavanjem otrova i njihova djelovanja na živi organizam zove se *toksikologija* [1].

Čovjek obično kod traženja odgovora na pitanje što je otrov, stavlja sebe u prvi plan te ga zanima što je otrovno za njega. No, često je upravo pitanje čovjekova opstanka naći odgovor na pitanje što bi mogao biti učinkovit otrov za druga živa bića, poput bakterija, kukaca, glodavaca, biljaka, itd. Davno je uočeno da neki otrovi mogu ubiti neko biće, no za drugo, u istoj dozi, gotovo ni ne škode [1].

Prema tome se dolazi do pojma učinka, tj. pitanja što je to poželjni, a što nepoželjni učinak. Poželjni učinak neke tvari na organizam bi bio problem farmakologije, a nepoželjni problem toksikologije [1].

Fizikalno ili agregatno stanje, vrsta otapala za pojedine otrove, topljivost, pri čemu se u toksikologiji podrazumijeva i topljivost u različitim otapalima, a ne samo u vodi te kemijska narav utječu na toksičnost tvari [1].

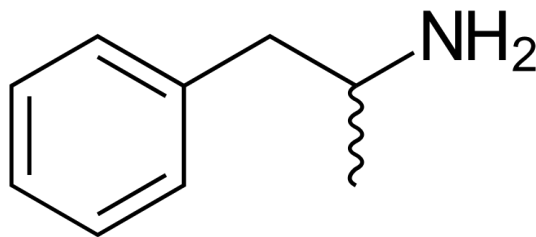
Metamfetamin, poznavajući definiciju otrova, ne bi bilo točno svrstati pod „otrove“ jer je stimulans droga koja djeluje na živčani sustav. Međutim, važno je naglasiti da metamfetamin ima značajne toksične učinke na tijelo kada se zloupotrebljava ili konzumira u prevelikim dozama. Toksičnost metamfetamina je složena i višestruka te obuhvaća razne fiziološke, psihičke pa i socijalne aspekte.

2. Klasifikacija

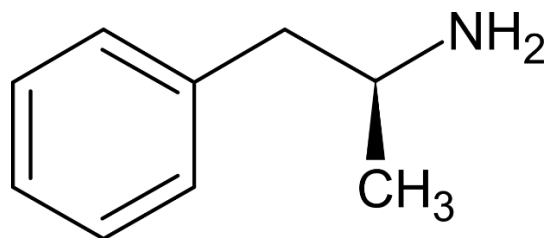
Sintetičke se droge mogu klasificirati prema kemijskoj strukturi ili prema dominantnom farmakološkom učinku. Kemijska je klasifikacija prilično jednostavna, dok je farmakodinamička podjela složena, primarno zbog mnogobrojnih učinaka tih droga.

Amfetamin (Slika 1.) je opći naziv za klasu stimulansa u koje se ubrajaju amfetamin, metamfetamin i mnogi drugi poput dekstroamfetamina (Slika 2.) i metkatinona. Spomenute supstance vrlo su slične kemijske strukture i proizvode slične učinke.

Amfetamini su sredstva koja se najčešće koriste kao stimulativna sredstva te se i ubrajaju u skupinu stimulansa središnjeg živčanog sustava (SŽS). Glavna opasnost pri njihovom korištenju je što odstranjuju pojavu umora, koja je osnovni znak da organizam treba prestati s određenom aktivnošću [1].



Slika 1. Struktura amfetamina

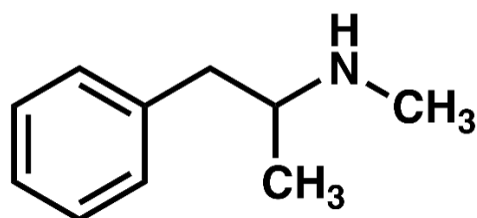


Slika 2. Struktura dekstroamfetamina

3. Metamfetamin

3.1. Kemijska struktura i odnos strukture i aktivnosti

Metamfetamin, vrlo jaka droga koja se obično naziva *meth*, a ostala imena su *Glass*, *Crank*, *Go-fast*, *shabo-shabo*, *Fire*, *Go*, *Zip*, itd., stimulira SŽS (veliki i mali mozak, produljena i kralježnična moždina), djeluje centralno i periferno te izaziva ovisnost. Kemijski srodan amfetaminu, ali su njegovi učinci na SŽS jači i brži, član je obitelji amfetamina koja uključuje niz tvari koje mogu biti stimulansi i halucinogeni. Dakle, metamfetamin je N, α -dimetilfenetilamin (Slika 3.). Prema IUPAC-u, potpuno sustavni naziv je N, α -dimetilbenzenetanamin. Asimetrični α -ugljikov atom daje dva enantiomera. Ova dva oblika prethodno su se nazivala [-]- ili l-stereoizomer i [+]- ili d-stereoizomer, ali u modernoj su upotrebi definirani kao R- i S-stereoizomeri. Molekulska formula metamfetamina je C₁₀H₁₅N, a molarna masa iznosi 149.2 g/mol [2]. Koristi se u medicinske svrhe, najviše u liječenju gojaznosti, narkolepsije i poremećaja deficita pažnje s hiperaktivnošću (ADHD), ali je njegova terapijska uporaba ograničena. Metamfetamin je stimulans II kategorije, što znači da ima visok adiktivni potencijal za zlouporabu i dostupan je jedino preko recepta.



Slika 3. Struktura N, α -dimetilbenzenetanamina

Može se koristiti na nekoliko načina: oralno, intranazalno, ubrizgavanjem u venu ili pušenjem. Brzina pojavljivanja učinaka varira ovisno o načinu uzimanja. Inhalacija ili intravenska injekcija uzrokuje trenutačne i intenzivne tjelesne senzacije, poznate kao „*rush*” ili „*flash*”, koje traju samo nekoliko minuta te su praćene osjećajem zadovoljstva. Kod pušenja ili parenteralnog uzimanja efekti se pojavljuju već unutar 5-10 sekundi. Ušmrkavanje i oralna konzumacija uzrokuju euforiju, ali ne tako intenzivnu. Nakon ušmrkavanja, učinci se javljaju nakon 3-5 minuta, dok se nakon oralnog uzimanja javljaju tek nakon 15-20 minuta [2].

Dosad je testirano preko stotinu spojeva iz grupe sintetički dizajniranih droga pri čemu je većina pokazala biološku aktivnost. Ove tvari su droge čija je sinteza izrazito jednostavna, zbog čega su izuzetno popularne među ilegalnim proizvođačima. Njihov značaj je posebno velik zbog toga što samostalno mogu izazvati psihoze te imaju sinergističko ili antagonističko djelovanje s drugim supstancama, što znači da pojačavaju ili inhibiraju njihov učinak [2].

3.2. Mehanizam djelovanja

Kada se metamfetamin unese u tijelo, brzo prolazi krvno-moždanu barijeru koristeći aktivni transport. Njegovo djelovanje temelji se na povećanju razine monoaminskih neurotransmitera, poput DA, norepinefrina i serotonina, potičući njihovo oslobađanje iz živčanih završetaka. To dovodi do redistribucije ovih neurotransmitera iz sinaptičkih vezikula u citoplazmu neurona, kao i njihovog izlučivanja u vanjski prostor preko VMAT2 (vezikularni monoaminski transporter). Kao rezultat, stimuliraju se moždane stanice, što pruža osjećaj budnosti, poboljšava raspoloženje i povećava razinu energije.

Metamfetamin, zahvaljujući svojoj sposobnosti da uđe u neurone, može izravno utjecati na vezanje transkripcijskog faktora CREB (engl. *Cyclic adenosine monophosphate (CAMP) response element binding protein*). CREB je transkripcijski faktor koji u normalnim uvjetima veže tzv. CAMP odgovorne elemente (sekundarne glasnike u važnim fiziološkim procesima), regulirajući tako transkripciju gena. Metamfetamin na taj način može direktno utjecati na regulaciju transkripcije nekoliko gena, uključujući c-fos (protoonkogen), BDNF gen, gen za tirozin hidroksilazu i gene koji kontroliraju cirkadijalni ritam sisavaca (PER1 i PER2).

Međutim, nakon ponovljene konzumacije metamfetamina, dolazi do smanjenja oslobađanja DA uslijed aktivacije homeostatskih mehanizama. To može izazvati razdražljivost, nesanicu, povišenu temperaturu, grčeve i tremore. Ostale posljedice konzumacije metamfetamina uključuju razvoj tolerancije, agresivno ponašanje, halucinacije, poremećaje pamćenja i paranoju [2]. Javljaju se i povećana energija i budnost: metamfetamin podiže razinu energije, poboljšava fokus i smanjuje umor. Također može smanjiti apetit i potrebu za snom. Metamfetamin stimulira i kardiovaskularni sustav, što dovodi do povišenog broja otkucaja srca i krvnog tlaka te pri dugotrajnoj uporabi i velikim dozama može uzrokovati smrt.

Postoje i razni psihijatrijski učinci kao što su povećano samopouzdanje, pričljivost i razdražljivost [2].

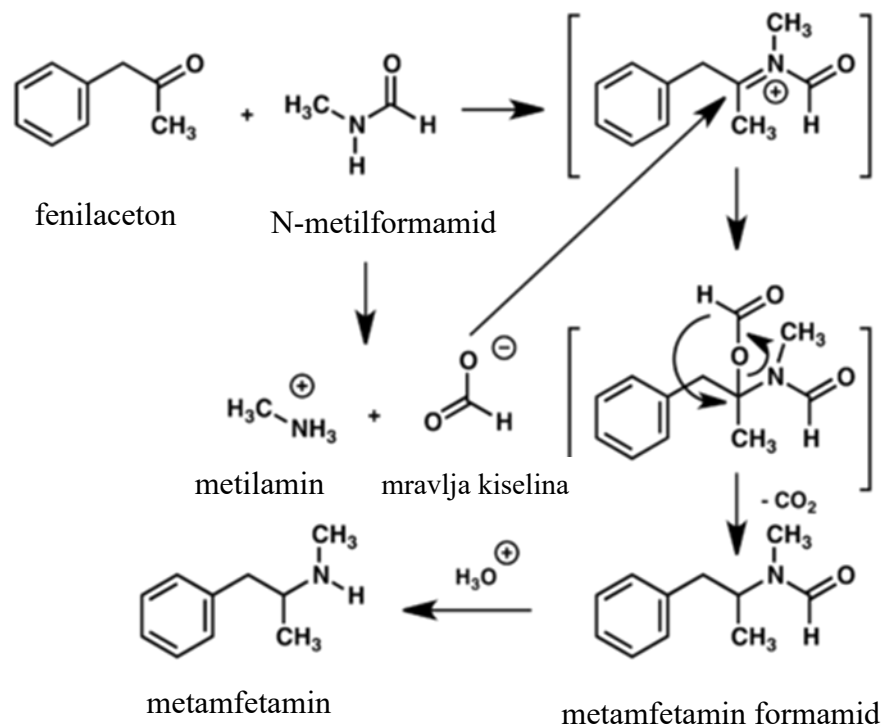
3.3. Povijest i sinteza kristalnog metamfetamina

Znanstvenici su razvili stimulanse amfetaminskog tipa kao alternativu efedri. Efedra je vrsta grma čiji se ekstrakt koristi u tradicionalnoj kineskoj medicini više od 5000 godina. Godine 1885. Nagai Nagayoshi, japanski kemičar koji je studirao u Njemačkoj, identificirao je aktivnu tvar u efedri, stimulans koji se zove efedrin. 1893. godine sintetizirao je metamfetamin. Metamfetamin (Slika 5.) je bilo teško proizvesti sve do 1919., kada je drugi japanski kemičar, Akira Ogata, pojednostavio proces. Upotrijebio je fosfor i jod kako bi reducirao efedrin u kristalizirani oblik, stvarajući prvi kristalni metamfetamin na svijetu [3]. Metamfetamin se rano koristio kao medicinski tretman za narkolepsiju, astmu i kao lijek za mršavljenje. Tijekom Drugog svjetskog rata, i Saveznici i sile Osovine koristili su lijek kako bi držali trupe budnima. Nakon rata, uporaba metamfetamina je dramatično porasla, čak i nakon što su je Sjedinjene Države zabranile 1970. godine [3].

Metamfetamin u racemičnoj smjesi može se pripremiti na dva načina: Leuckartovom metodom (Slika 5.) ili reduktivnom aminacijom. U Leuckartovoj reakciji, fenilacetone reagira s dva ekvivalenta N-metilformamida, stvarajući formilamid metamfetamin, uz nusprodukte ugljični dioksid i metilamin. Tijekom ove reakcije, stvara se iminijev kation kao međuprodukt koji se dalje reducira uz dodavanje još jedne molekule N-metilformamida. Intermedijarni formilamid potom se hidrolizira u kiselim uvjetima, rezultirajući metamfetaminom kao konačnim proizvodom.

Drugi način je reakcija fenilacetona s metilaminom pod redukcijским uvjetima, što također dovodi do formiranja metamfetamina.

Dakle, postoji nekoliko puteva za dobivanje racemične smjese metamfetamina te oni ovise o kemijskim reakcijama koje se primjenjuju tijekom sinteze [4].



Slika 4. Shematski prikaz sinteze metamfetamina Leuckartovom reakcijom

Tijekom početka sedamdesetih godina dvadesetog stoljeća, došlo je do istinske epidemije zlouporabe i ilegalne proizvodnje metamfetamina, dok se u isto vrijeme smanjivala legalna proizvodnja. Metamfetamin u legalnoj formi dostupan je na tržištu pod zaštićenim nazivom Desoxyn®, a najčešće se propisuje za liječenje pretilosti. Istraživanja iz 1996. otkrivaju da je tada 4,4 % učenika srednjih škola bar jednom u životu konzumiralo metamfetamin [5].



Slika 5. Kristalni metamfetamin

4. Neurotoksičnost metamfetamina

Zloupotreba metamfetamina nosi mnoge kratkoročne i dugoročne opasnosti poput nekih "kratkoročnih" rizika koji uključuju ubrzan rad srca, povišenu tjelesnu temperaturu, drhtanje, proširene zjenice, mučninu, povraćanje, gubitak apetita i nesanicu. Dugoročni rizici uključuju ovisnost, probleme sa zubima (često se nazivaju "meth ustima"), gubitak težine, kožne rane ili infekcije, gubitak pamćenja, kognitivno oštećenje, poremećaje raspoloženja, kardiovaskularna oštećenja, oštećenja jetre i bubrega te povećani rizik od moždanog udara i Parkinsonove bolesti [6].

4.1. Akutni učinci visokih doza

Primjena metamfetamina uzrokuje akutno povećanje otpuštanja dopamina (DA) i serotonina (5HT) [7]. Sekundarno u odnosu na povećanje izvanstaničnog DA, također uzrokuje akutno povećanje strijatalnog glutamata kao rezultat dezinhibicije otpuštanja kortikostriatalnog glutamata posredovanog D₁ DA receptorom [7]. Nakon akutnih učinaka izloženosti, metamfetamin uzrokuje dugotrajno oštećenje dopaminergičkih i serotonergičkih završetaka aksona u striatumu, hipokampusu i prefrontalnom korteksu. Neurokemijski markeri ove toksičnosti uključuju smanjenje ekspresije tirozin i triptofan hidroksilaze, enzima koji je prvi korak u sintezi 5HT, neurotransmitera koji je odgovoran za regulaciju raspoloženja, spavanja i apetita [8].

4.2. Dugotrajni učinci malih doza

Izloženost metamfetaminu rezultira dugotrajnim oštećenjem dopaminskog sustava i kod ljudi koji ga uzimaju i kod životinjskih modela. Kronična uporaba često je povezana s kognitivnim nedostacima u rasponu od oslabljene kontrole impulsa, problema s koncentracijom, radnom memorijom i donošenjem odluka do problema s motoričkom koordinacijom, uključujući inhibicijsku kontrolu [9]. Kronični korisnici izloženi su većem riziku od razvoja Parkinsonove bolesti (PD) od onih koji ne koriste metamfetamin. Druge

posljedice dugotrajne zlouporabe uključuju djelomičan gubitak DA i 5HT sustava u više područja mozga, kao što su striatum, korteks i hipokampus [9].

4.3. Gliozna uzrokovana uporabom metamfetamina

Gliozna je prirodni reaktivni proces glija stanica (astrociti i mikroglije) na ozljedu mozga, oštećenje, infekciju ili poremećenu homeostazu. Dijelom ga karakterizira povećana ekspresija proteina specifičnih za gliju i morfološki hipertrofirana stanična tijela i procesi te, u nekim slučajevima, također stanična proliferacija i migracija [10]. Stanična proliferacija se odnosi na reprodukciju stanica putem diobe, pri čemu jedna stanica stvara dvije nove stanice. Igra ključnu ulogu u rastu tkiva i organa, kao i u procesima popravka i obnove oštećenih tkiva. Kontrolira se strogim regulatornim mehanizmima kako bi se održala ravnoteža između stvaranja novih stanica i njihovog gubitka. Nepravilna proliferacija stanica može dovesti do bolesti kao što su rak i hiperplazija. Stanična migracija proces je kretanja stanica iz jednog mjesta u tijelu na drugo. Ključna je za razvoj organizma tijekom embriogeneze, kada se stanice moraju pravilno premjestiti kako bi oblikovale različite tkivne slojeve i organe. Tijekom migracije, stanice koriste različite mehanizme kao što su kretanje pomoću pseudopodija (proteinskih izdanaka), promjena oblika stanica i interakcije s molekulama u staničnoj okolini. Migracija stanica također ima važnu ulogu u popravku oštećenih tkiva i regeneraciji [10].

O funkcijama glioze nakon ozljede mozga i je li odgovor koristan ili štetan se i dalje raspravlja. Stoga je pozornost usmjerena na to pokazuje li mozak korisnika metamfetamina znakove mikroglioze ili astroglioze. To su pojmovi koji opisuju stanje upale ili aktivacije astrociti i mikroglija.

Mikroglija su stanice imunološkog sustava koje se nalaze u središnjem živčanom sustavu. Glavna im je uloga održavanje čistoće i zaštite središnjeg živčanog sustava. Kada se dogodi ozljeda, upala ili bolest, mikroglija se aktivira i prepoznaje oštećene stanice i patogene mikroorganizme te ih fagocitira (apsorbira i razgrađuje).

Astrociti su stanice koje pomažu u održavanju strukturne cjelovitosti mozga tako što tvore mrežu koja podržava neurone. Sudjeluju u metabolizmu neurona, omogućujući im pristup glukozu i drugim hranjivim tvarima, također reguliraju koncentraciju neurotransmitera u

sinapsama te igraju ulogu u održavanju barijere između krvi i mozga. Ova barijera kontrolira što može proći iz krvi u mozak kako bi zaštitila SŽS od potencijalno štetnih tvari.

Uporaba metamfetamina može izazvati oksidativni stres u mozgu. Oksidativni stres je neravnoteža između proizvodnje reaktivnih kisikovih vrsta (engl. *Reactive oxygen species*, ROS) i sposobnosti organizma da se nosi s njima te dugotrajna izloženost metamfetaminu može izazvati oštećenje astrocita, što može utjecati na njihovu sposobnost podrške neuronima i održavanja homeostaze mozga [10].

Metamfetamin također može uzrokovati aktivaciju mikroglija stanica. Aktivirana mikroglija, koja se često naziva „neuroinflamatorna mikroglija“, može osloboditi upalne citokine i druge molekule koje potiču upalu i oštećenje neurona. Ovaj proces može pridonijeti neurotoksičnim učincima metamfetamina na mozak. Dugotrajna aktivacija mikroglije može uzrokovati kroničnu neuroinflamaciju koja može doprinijeti oštećenju SŽS [11].

Iako ove stanične promjene nisu jednake oštećenju mozga koje se obično opaža nakon ozljede mozga općenito, prvenstveno u DA bogatom striatumu u mozgu pokusnih životinja izloženih visokim dozama metamfetamina, najnovija istraživanja sugeriraju da je došlo do nekih astrocitnih „poremećaja“, koji bi mogli biti povezani s neurotoksičnošću metamfetamina ili s procesom neuroplastičnog remodeliranja. Ipak, nije sa sigurnošću utvrđeno je li gliozna mozga karakteristika kronične uporabe metamfetamina kod ljudi ili nije [12].

4.4. Stanična smrt uzrokovana uporabom metamfetamina

Iako nije opsežno proučavano, postoje dokazi koji potvrđuju da metamfetamin može uzrokovati staničnu smrt (apoptozu), uz oštećivanje DA i 5HT terminala. TUNEL metodom (engl. *Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling*), koja je jedna od najspecifičnijih metoda za detekciju i kvantifikaciju apoptoze, uočena je pojačana apoptoza u prefrontalnom korteksu i striatumu nakon izlaganja metamfetaminu. Ova stanična smrt identificirana je u različitim subpopulacijama GABA interneurona [13]. Konkretno, pokazalo se da metamfetamin inducira apoptozu kroz povećanje aktivnosti kaspaze-3 i Fas/FasL puteva stanične smrti. Metamfetamin također uzrokuje oštećenje DNA

i promjene u ekspresiji gena povezanih s Bcl-2, što može doprinijeti staničnoj smrti GABA interneurona. Nedavno je sve veći broj istraživanja pokazao da autofagija, proces samorazgradnje, također igra ulogu u procesu oštećenja stanica kod korisnika metamfetamina [14].

4.5. Metamfetamin i HIV-1

Postoji otprilike 10-15 % pacijenata s virusom humane imunodeficijencije-1 (HIV-1) koji su korisnici metamfetamina u Sjedinjenim Američkim Državama [15]. Rizično ponašanje prati snažne neurološke impulse povezane sa zlouporabom metamfetamina što će rezultirati visokim brojem korisnika metamfetamina koji dobiju infekciju HIV-1. S druge strane, klinička istraživanja opisuju da osobe zaražene HIV-1 aktivno sudjeluju u zlouporabi metamfetamina. Neurotoksični ishodi zlouporabe metamfetamina i infekcije SŽS-a uslijed HIV-1 uključuju, ali nisu ograničeni na, hipertermiju mozga, oslobađanje upalnih medijatora i reaktivnih kisikovih vrsta (ROS), ekscitotoksičnost i astrogliozu [16].

Kombinacija zlouporabe metamfetamina i HIV infekcije može dovesti do značajnih promjena u funkcioniranju DA neurona. Iako odgovorni mehanizmi toksičnosti HIV-1 SŽS-a nisu dobro definirani, neurotoksični virusni proteini, kao što je Tat, koji se oslobađaju iz zaraženih stanica, mogu biti uključeni. Tat je nestrukturani virusni protein koji je neophodan za replikaciju virusa. *In vitro* ga aktivno otpuštaju zaražene limfoidne i glijalne stanice. Pokazalo se da intrastrijatne injekcije Tat-a oštećuju i eferentne i aferentne projekcije strijatuma, uključujući nigrostrijatne DA neurone.

Pokazalo se da Tat i *in vitro* i *in vivo* dovodi do proizvodnje ROS-a ili oksidativnog oštećenja [17]. Još jedan čimbenik koji bi mogao pridonijeti oksidativnom stresu je taj da bi hipertermija nastala korištenjem metamfetamina mogla pridonijeti metaboličkom stresu izazvanom Tat-om i tako povećati njegovu toksičnost. Aktivnosti vezanja transkripcijskih faktora DNA NF- κ B, AP-1 i CREB u frontalnom korteksu i hipokampusu bile su izraženije kod miševa kojima su ubrizgani Tat i metamfetamin u usporedbi s učincima Tat ili samog metamfetamina. Ekspresija gena međustanične adhezijske molekule-1 (engl. *intracellular adhesion molecule*, ICAM-1) također je bila regulirana na sinergistički način u kortikalnim, strijatalnim i hipokampalnim regijama kod miševa koji su primili injekcije Tata u kombinaciji s metamfetaminom u usporedbi s učincima tih agenasa samih [17]. Ova

istraživanja pokazuju da Tat pojačava metamfetaminom inducirana smanjenja u strijatalnom otpuštanju i sadržaju DA, vjerojatno na sinergistički način i sugeriraju da osobe zaražene HIV-om koje koriste metamfetamin mogu biti izložene povećanom riziku od disfunkcije bazalnih ganglija. Tat i metamfetamin mogu unakrsno pojačati svoje stanične učinke, dovodeći do promjena redoks-reguliranih upalnih putova u mozgu. Takva sinergistička proinflamatorna stimulacija može imati značajne implikacije kod pacijenata zaraženih HIV-om koji zlorabe droge [18].

5. Metabolizam neurotoksičnosti

Predložene su različite hipoteze o mehanizmu odgovornom za neurotoksičnost izazvanu metamfetaminom, uključujući hipertermiju, oslobađanje glutamata, reaktivne vrste kisika, reaktivne vrste dušika, molekule povezane s apoptozom i DA kinon. Pretpostavlja se da interakcije između ovih čimbenika iniciraju neurotoksičnost izazvanu metamfetaminom.

5.1. Višak dopamina

Primjena metamfetamina dovodi do trajnog smanjenja razine DA u strijatalnom tkivu, trajnog gubitka dopaminergičkih živčanih završetaka, smanjene aktivnosti tirozin hidroksilaze i izraženog gubitka transportera DA. Dodatni dokazi upućuju na to da pojačani oksidativni stres kritično pridonosi neurotoksičnosti. Pretjerano otpuštanje DA izazvano metamfetaminom povezano je s povećanom proizvodnjom reaktivnih kisikovih spojeva. Čimbenik koji u velikoj mjeri doprinosi oštećenju dopaminergičkog sustava izazvanom metamfetaminom je aktivacija D₁ DA receptora [19].

5.2. Disfunkcija ubikvitin-proteasomskog sustava (UPS)

Dva glavna unutarstanična sustava razgradnje u eukariotskim stanicama su ubikvitin-proteasomski sustav (UPS) i autofagijski lizosomski (ALS) put. Poremećena razgradnja proteina je uključena u staničnu toksičnost i eventualne degenerativne procese u kroničnim neurodegenerativnim poremećajima uključujući Parkinsonovu bolest, Alzheimerovu bolest, Huntingtonovu bolest i druge povezane proteinopatije. UPS prvenstveno razgrađuje kratkotrajne i citosolne proteine. S druge strane, makroautofagija razgrađuje topljive proteine, velike agregate i organele u citoplazmi i visoko je očuvan sustav masovne razgradnje u eukariota. Novija istraživanja pokazuju da je neurotoksičnost izazvana zlouporabom metamfetamina povezana sa stvaranjem ubikvitin-pozitivnih agregata i multilamelarnih tijela, što znači da indukcija autofagije može predstavljati citoprotektivni odgovor nakon korištenja metamfetamina. Isto tako, ubikvitin-pozitivne proteinske inkluzije

pronađene su u crnim neuronima kroničnih ovisnika o metamfetaminu, što podupire ideju da disfunkcija UPS-a može biti funkcionalno povezana s neurotoksičnošću izazvanom zlouporabom metamfetamina [20].

PKC δ , protein kinaza C delta, pripada obitelji od 11 strukturno povezanih serin/treonin protein kinaza koje imaju važnu ulogu u procesima stanične proliferacije, preživljavanja i smrti [20]. Nedavna istraživanja su pokazala da je PKC δ visoko izražen u dopaminergičkim neuronima nigrostrijata i da se aktivira putem proteolitičkog cijepanja kao odgovor na oksidativni stres [21]. U eksperimentalnom modelu mezencefalnih dopaminergičkih stanica u kulturi, primjena metamfetamina je inducirala rani početak autofagije, što je bilo povezano sa smanjenjem funkcije proteasoma i oštećenjem mitohondrijskog membranskog potencijala (MMP). Nakon toga, značajno je povećana aktivacija PKC δ . Zanimljivo je da je suzbijanje PKC δ pomoću male interferirajuće RNA (engl. *Small interfering RNA*, siRNA) ili prekomjerna ekspresija mutiranog PKC δ otpornog na cijepanje dramatično smanjila metamfetamin-induciranu autofagiju, funkciju proteasoma i nakupljanje proteinskih agregata, što je bilo povezano s poboljšanim preživljavanjem stanica [22].

Sve ovo ukazuje na to da metamfetamin-inducirana autofagija djeluje kao adaptivna strategija za supresiju mitohondrijski posredovane apoptotske stanične smrti i razgradnju agregiranih proteina. Ovi rezultati također sugeriraju da neprekidna aktivacija PKC δ rezultira disfunkcijom UPS sustava, što dovodi do aktivacije kaspazom-3 posredovane apoptotske stanične smrti u nigrostrijatalnom dopaminergičkom sustavu [22].

5.3. Nitracija proteina

Jedno od najčešćih objašnjenja neurotoksičnosti izazvane metamfetaminom je da oksidativni stres ima ključnu ulogu u patogenezi čije je razumijevanje ključno za identificiranje uzroka bolesti, a samim time kasnije i za liječenje. Ranije istraživanje je pokazalo da radikalni dušikov oksid (\bullet NO) ima citotoksični učinak u SŽS kada se proizvodi brzo putem aktivacije puta DDAH/ADMA/NOS (engl. *dimethylarginine dimethylaminohydrolase/asymmetric dimethylarginine/nitric oxide synthase pathway*). Istraživanja pokazuju dramatično povećanje reaktivnih vrsta dušika (RNS), sekundarnih intermedijera \bullet NO, kao što su peroksinitritni anion (ONOO^-) i dušikov dioksid (\bullet NO $_2$), u različitim regijama mozga kod ljudi i glodavaca izloženih metamfetaminu [6].

Nitracija proteina tirozina je važna posttranslacijska modifikacija posredovana oksidativnim stresom povezanim s dušikovim oksidom (NO) te je prisutna u raznim neurodegenerativnim bolestima poput Parkinsonove bolesti i Alzheimerove bolesti. Prethodna istraživanja su pokazala da je povećana razina proteina dimetilarginin dimetilaminohidrolaze 1 (DDAH1) primijećena u različitim regijama mozga štakora akutno tretiranih metamfetaminom što ukazuje na mogućnost pojačane ekspresije nitracije proteina posredovane prekomjernim NO putem DDAH1/ADMA/NOS puta. DDAH1 je glavna izoforma dimetilarginin dimetilaminohidrolaze (DDAH) koja je uglavnom izražena u živčanom sustavu. Istraživanjem je potvrđeno da je primjena akutne doze metamfetamina rezultirala aktivacijom puta DDAH1/ADMA/NOS i povećanom proizvodnjom NO u različitim regijama mozga štakora i stanicama PC12. U ovom je istraživanju otkriveno i da inhibitor DDAH1, N ω -(2-metoksietil)-arginin (L-257), ima značajne zaštitne učinke protiv nitracije proteina, apoptoze i stanične smrti uzrokovane metamfetaminom. Ukupni rezultati ukazuju na važnu ulogu nitracije proteina u akutnoj neurotoksičnosti izazvanoj metamfetaminom putem aktivacije puta DDAH1/ADMA/NOS [6].

5.4. Stres endoplazmatskog retikuluma (ERS)

Neurotoksičnost metilamfetamina povezana je sa smrtnim ishodima vezanim za korištenje te tvari. Pretpostavlja se da srednji mozak, zajedno sa striatumom, trpi neurotoksične učinke metamfetamina. Stres endoplazmatskog retikuluma (ERS) ima ulogu u procesima neuronske apoptoze u striatumu kod životinja koje su bile izložene neurotoksičnom metamfetaminu[23]. Tijekom ERS-a, glukozom regulirani protein 78 (GRP78), koji je jedna od molekula šaperona (pratioca) endoplazmatskog retikuluma, može vezati nesavijene proteine, razgraditi proteine koji su neispravno složeni te pružiti neuroprotekciju. Pretpostavlja se da je transkripcijski faktor C/EBP homologni protein (CHOP), koji je induciran ERS-om, uključen u apoptozu potaknutu ERS-om putem smanjenja ekspresije anti-B-staničnog limfomskog proteina 2 (Bcl-2). Povećana ekspresija GRP78 i CHOP-a je uočena u striatumu miševa koji su bili izloženi neurotoksičnim dozama metamfetamina [24].

5.5. Ekspresija p53

Uključenost transkripcijskog faktora p53 koji izaziva apoptozu uslijed zlouporabe metamfetamina podupiru istraživanja koje pokazuju smanjeno oštećenje dopaminergičkih stanica, posebno dopaminergičkih terminala, u p53-nokautiranih miševa (miševi kod kojih je genetskom modifikacijom inaktiviran određeni gen). Istraživanjima je dokazano da ponovljene injekcije metamfetamina rezultiraju povećanjem aktivnosti vezanja p53-DNA u striatumu, što je bilo značajno smanjeno u Cu, Zn-superoksid dismutaza transgenih miševa (miševi u koje je unesen strani gen). Cu, Zn-superoksid dismutaza ima ulogu u zaštiti organizma od oštećenja uzrokovanih ROS-om. Ovi nalazi sugeriraju da oksidativnim stresom inducirana aktivacija vezanja p53-DNA u striatumu pokreće *downstream* apoptotičke putove povezane s neurotoksičnošću metamfetamina [25].

5.6. D₃ receptor

Novija istraživanja su ukazala na povezanost dopaminskog D₃ receptora (D₃R) s ovisnošću o metamfetaminu. Na primjer, dokazano je da inhibicija D₃ receptora smanjuje poticajne i motivacijske učinke metamfetamina kod štakora. Prethodna istraživanja su također otkrila da D₃R ima različite uloge u regulaciji senzibilizacije uzrokovane metamfetaminom. Stoga, D₃ receptori mogu biti potencijalne mete za tretiranje ovisnosti o metamfetaminu [26,27].

Također, u novije je vrijeme dokazano da su D₃ receptori uključeni u hipertermiju koju izaziva metamfetamin. Metamfetamin reagira s dopaminskim transporterom (DAT) i povećava koncentraciju DA u izvanstaničnom prostoru, koji se zatim veže na različite podtipove dopaminskih receptora. Iako nije potpuno poznat doprinos svakog od podtipova receptora učincima metamfetamina, neselektivni antagonisti dopaminskih D₃ receptora mogu umanjiti promjene u dopaminskim sustavima izazvane metamfetaminom. Istraživanjima je ispitana uloga podtipa receptora za DA, D₃, u posredovanju dugoročnim dopaminergičkim i, zbog usporedbe, serotonergičkim deficitima uzrokovanim metamfetaminom. Rezultati su pokazali da selektivni antagonist D₃ receptora za DA, PG01037, umanjuje smanjenje DAT-a u striatumu izazvano metamfetaminom, ali ne i funkciju 5HT transportera u hipokampusu. Međutim, PG01037 također umanjuje metamfetaminom izazvanu hipertermiju. Kada se hipertermija inducirana metamfetaminom

održavala tretiranjem štakora u toplom okruženju, PG01037 nije uspio umanjiti učinke metamfetamina na unos DAT-a. Nadalje, PG01037 nije ublažio metamfetaminom inducirana smanjenja sadržaja DA i 5HT. Sveukupno, ovo istraživanje pokazalo je da D₃ receptori za DA djelomično posreduju u dugotrajnim poremećajima funkcije DAT-a uzrokovanim metamfetaminom te da taj učinak vjerojatno uključuje slabljenje hipertermije izazvane metamfetaminom [28].

6. Liječenje neurotoksičnosti

6.1. Minociklin

Minociklin je tetraciklinski antibiotik druge generacije s visokom sposobnošću prodora kroz krvno-moždanu barijeru. Osim svojih antibakterijskih svojstava, minociklin također posjeduje snažna protuupalna i neuroprotektivna svojstva. U životinjskim modelima neuroloških bolesti, kao što su amiotrofična lateralna skleroza, Huntingtonova bolest i Parkinsonova bolest, minociklin je pokazao neuroprotektivne učinke [29, 30].

Studije koje su uključivale mikrodijalizu *in vivo* pokazale su da prethodna primjena minociklina (40 mg/kg) značajno smanjuje povećane razine DA u izvanstaničnom prostoru striatuma nakon primjene metamfetamina (3 mg/kg). Ovi rezultati sugeriraju da minociklin smanjuje neurotoksičnost izazvanu metamfetaminom u striatumu. Neuroprotektivni učinci minociklina mogu biti posredovani neizravno aktivacijom i proliferacijom mikroglije. S druge strane, minociklin također izravno štiti neurone te održava integritet mitohondrija i citokroma c, što rezultira suzbijanjem kaspaza-ovisne i kaspaza-neovisne stanične smrti [29].

Na temelju navedenog, minociklin se smatra potencijalno korisnim lijekom za liječenje različitih simptoma povezanih s upotrebom metamfetamina kod ljudi.

6.2. Parkin

Parkin je protein E3 ubikvitin ligaza. Glavna funkcija parkina je dodavanje poliubikvitinskih lanaca proteinima koji su namijenjeni za razgradnju putem 26S proteasoma. Nedostatak funkcije parkina u dopaminergičkim neuronima dovodi do njihove neurodegeneracije. S druge strane, prekomjerna ekspresija parkina štiti dopaminergičke neurone od različitih staničnih oštećenja *in vitro* i *in vivo*, posebno od onih koji su povezani s neurotoksičnošću metamfetamina, poput oksidativnog stresa izazvanog DA-om, inhibicije mitohondrijske funkcije i oštećenja proteasoma [31].

Parkin štiti tijela dopaminergičkih neurona u crnoj tvari (engl. *substantia nigra*) glodavaca od različitih oštećenja, uključujući 6-hidroksidopamin, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) te prekomjernu ekspresiju proteina, poput alfa-sinukleina i tau, koji tvore agregate u specifičnim neurodegenerativnim bolestima [32]. U štakora izloženih metilamfetaminu, povećanje razine parkina oslabilo je smanjenje imunoreaktivnosti strijatalne tirozin-hidroksilaze koje je izazvano metilamfetaminom, ovisno o dozi. To ukazuje da parkin može zaštititi dopaminergičke terminale u striatumu od neurotoksičnosti metilamfetamina. Ovi rezultati ukazuju na važnost parkina u funkcioniranju i održavanju dopaminergičkih neurona.

6.3. Kolecistokinin

Kolecistokinin (CCK) je peptid koji se javlja u crijevima i mozgu, i ima raznolike biološke aktivnosti u gastrointestinalnom traktu i središnjem živčanom sustavu. CCK-8 ima ulogu u regulaciji prehrane, percepciji boli, učenju i pamćenju te se povezuje s patogeneom anksioznosti i psihoze. Ovaj peptid modulira otpuštanje nekoliko neurotransmitera, uključujući DA i gama-aminomaslačnu kiselinu (GABA) te vjerojatno djeluje kao neurotransmiter ili modulator. Ranija istraživanja pokazuju da CCK-8 ima antioksidativne i protuupalne učinke. Također, pokazuje neuroprotektivne učinke u modelima oštećenja neurona [6].

Otkriveno je da prethodna primjena CCK-8 inhibira karakteristične promjene izazvane ponovljenim izlaganjem metilamfetaminu, kao što su hiperlokomocija, senzibilizacija ponašanja, stereotipno ponašanje i dopaminergička neurotoksičnost. Ova otkrića sugeriraju da bi CCK-8 mogao biti potencijalni terapijski agens za tretiranje različitih simptoma povezanih sa zlouporabom metilamfetamina [6].

6.4. Genska terapija

Inhibicija ROCK2 gena je istaknuta kao cilj za gensku terapiju jer ima zaštitni učinak za različite stanične linije i patofiziološka stanja. ROCK enzimi su implicirani u Parkinsonovoj bolesti, a inhibicija ROCK2 doprinosi zaštiti neurona. Postoje dokazi o povezanosti PD-a

kod osoba koje zlorotrebjavaju metilamfetamin. Identificirani su molekularni mehanizmi koji objašnjavaju ulogu ROCK enzima u apoptozi. Istraživanja su pokazala da je ROCK2 mogući cilj za gensku terapiju neurotoksičnosti izazvane zluporabom metamfetamina *in vitro*, što pruža temelj za daljnja istraživanja *in vivo* [6].

Gen PAG608 je proapoptotski gen koji se aktivira i regulira ekspresijom p53 tijekom apoptoze neuronskih stanica uzrokovane oksidativnim stresom. Nedavna istraživanja su pokazala da supresija PAG608 putem prolazne i stabilne transfekcije (namjernog uvođenja pročišćenih nukleinskih kiselina u eukariotsku stanicu) s PAG608 *antisense* cDNA ili siRNA smanjuje smrt monoaminergičkih neuronskih stanica induciranu metilamfetaminom. To upućuje na to da je neurotoksičnost metamfetamina u monoaminergičkim stanicama povezana, barem djelomično, s indukcijom ekspresije gena PAG608 [6].

6.5. Endokanabinoidni sustav

Endokanabinoidni sustav (ECS) je endogeni neuromodulatorni sustav koji sudjeluje u različitim funkcijama, uključujući anksioznost, depresiju, neurogenezu, nagrađivanje, kogniciju, učenje i pamćenje. Endogeni kanabinoidi također imaju neuroprotektivnu ulogu u patološkim situacijama. Na primjer, primjena toksičnih doza metamfetamina mijenja razinu endokanabinoida u striatumu, kao i razinu endogenih liganda kanabinoidnih receptora CB1 i CB2, a inhibicija hidrolize tih spojeva sprječava smanjenje razine tirozin hidroksilaze uzrokovane metamfetaminom, što je karakteristično za terminalni gubitak DA u striatumu. Nedavna su istraživanja također otkrila da metamfetamin mijenja razine glavnih endokanabinoida, anandamida (AEA) i 2-arahidonoil glicerola (2-AG), u striatumu, što ukazuje na sudjelovanje ECS-a u odgovoru mozga na metamfetamin. Zaključno, stimulacija ECS-a prije izloženosti prevelikoj dozi metamfetamina značajno smanjuje neurotoksičnost lijeka i naglašava zaštitnu ulogu ECS-a protiv toksičnosti uzrokovane lijekovima i drugim vanjskim faktorima štetnim za mozak [33].

7. Zaključak

Zaključno, metamfetamin je moćan psihostimulans koji uzrokuje snažnu ovisnost i djeluje na SŽS putem različitih fizioloških puteva, što rezultira oslobađanjem monoaminskih neurotransmitera u središnjem i perifernom živčanom sustavu. Zbog visoke tendencije ove droge ka stvaranju ovisnosti, često se javljaju ozbiljni psihosocijalni problemi, uključujući medicinske i pravne poteškoće te rizično ponašanje.

Akutna i kronična uporaba metamfetamina može dovesti do oslobađanja DA i 5HT, što dovodi do kognitivnih deficita, agitacije, nasilnog ponašanja, tjeskobe, zbunjenosti i paranoje. To se djelomično pripisuje izravnim neurotoksičnim učincima lijeka koji uključuju ekscitotoksičnost i oksidativni stres. Nedavno su identificirani novi uzroci neurotoksičnosti metamfetamina, uključujući disfunkciju UPS-a, nitraciju proteina, stres endoplazmatskog retikuluma, ekspresiju p53, D3 receptore, endokanabinoidni sustav te učinke unakrsnog pojačanja HIV-1 Tat proteina.

Opisano je nekoliko terapijskih strategija za liječenje ovisnosti o metamfetaminu, uključujući upotrebu lijekova, proteina, citokina i gena.

Na kraju, rješavanje problema toksičnosti metamfetamina zahtjeva zajednički rad i napor pojedinca, ali i zajednica te vlade. Razumijevanjem duboke psihičke, fizičke, ali i društvene štete povezane s ovom drogom, može se raditi na ublažavanju njezinih toksičnih učinaka i promicanju zdravijeg života bez droge.

8. Literatura

- [1] Z. Duraković i suradnici, Klinička toksikologija, Grafos, Zagreb, 2000.
- [2] S. Haxhibeqiri , V. Haxhibeqiri, Nove sintetičke (dizajnirane) droge, Zdravstveni glasnik 4 (2018) 61-63.
- [3] <https://www.history.com/topics/crime/history-of-meth> (30.6.2023.)
- [4] <https://bs.wikipedia.org/wiki/Metamfetamin> (29.6.2023.)
- [5] Europski centar za praćenje droga i ovisnosti o drogama, Europsko izvješće o drogama, Trendovi i razvoj 2014., (2015.), 24.-25.
- [6] S. Yu, L. Zhu, Q. Shen, X. Bai, X. Di, Recent Advances in Methamphetamine Neurotoxicity Mechanisms and Its Molecular Pathophysiology, Behavioural Neurology, 2015 (2015) 103969.
- [7] L. E. Halpin, S. A. Collins, B. K. Yamamoto, Neurotoxicity of methamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine, Life Sciences 97 (2014) 37–44.
- [8] K. A. Mark, J. J. Soghomonian, B. K. Yamamoto, High-dose methamphetamine acutely-activates the striatonigral pathway to increase striatal glutamate and mediate long-term dopamine toxicity, The Journal of Neuroscience 24 (2004) 11449–11456.
- [9] N. D. Volkow, L. Chang, G.-J. Wang, J. S. Fowler, D. Franceschi, M. Sedler, S. J. Gatley, E. Miller, R. Hitzemann, Y. S. Ding, J. Logan, Loss of dopamine transporters in methamphetamine abusers recovers with protracted abstinence, The Journal of Neuroscience 21 (2001) 9414–9418.
- [10] M. V. Sofroniew, H. V. Vinters, Astrocytes: biology and pathology, Acta Neuropathologica 119 (2010) 7–35.
- [11] D. Zhang, X. Hu, L. Qian, J. P. O'Callaghan, J.-S. Hong, Astrogliosis in CNS pathologies: is there a role for microglia?, Molecular Neurobiology 41 (2010) 232–241.
- [12] I. N. Krasnova, Z. Justinova, B. Ladenheim, S. Jayanthi, M. T. McCoy, C. Barnes, J. E. Warner, S. R. Goldberg, J. L. Cadet, Methamphetamine self-administration is associated with persistent biochemical alterations in striatal and cortical dopaminergic terminals in the rat, PLoS ONE 5 (2010) e8790.

- [13] S. Jayanthi, X. Deng, B. Ladenheim, M. T. McCoy, A. Cluster, N. S. Cai, J. L. Cadet, Calcineurin/NFAT-induced up-regulation of the Fas ligand/Fas death pathway is involved in methamphetamine-induced neuronal apoptosis, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (2005) 868–873.
- [14] E. L. Riddle, A. E. Fleckenstein, G. R. Hanson, Mechanisms of methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity, *The AAPS Journal* 8 (2006) 413–418.
- [15] I. E. Cisneros, A. Ghorpade, Methamphetamine and HIV-1-induced neurotoxicity: role of trace amine associated receptor 1 cAMP signaling in astrocytes, *Neuropharmacology* 85 (2014) 499–507.
- [16] K. Blackstone, J. E. Iudicello, E. E. Morgan, E. Weber, D. J. Moore, D. R. Franklin, R. J. Ellis, I. Grant, S. P. Woods, Human immunodeficiency virus infection heightens concurrent risk of functional dependence in persons with long-term methamphetamine use, *Journal of Addiction Medicine* 7 (2013) 255–263.
- [17] I. E. Cisneros, A. Ghorpade, HIV-1, Methamphetamine and astrocyte glutamate regulation: combined excitotoxic implications for neuro-AIDS, *Current HIV research* 10 (2012) 392–406.
- [18] E. A. Kiyatkin, H. S. Sharma, Environmental conditions modulate neurotoxic effects of psychomotor stimulant drugs of abuse, *International Review of Neurobiology* 102 (2012) 147–171.
- [19] D. M. Friend, K. A. Keefe, A role for D1 dopamine receptors in striatal methamphetamine-induced neurotoxicity. *Neuroscience Letters* 555 (2013) 243–247.
- [20] M. E. Reyland, Protein kinase C isoforms: multi-functional regulators of cell life and death, *Frontiers in Bioscience* 14 (2009) 2386–2399.
- [21] D. Zhang, A. Kanthasamy, V. Anantharam, Effects of manganese on tyrosine hydroxylase (TH) activity and TH-phosphorylation in a dopaminergic neural cell line, *Toxicology and Applied Pharmacology* 254 (2011) 65–71.
- [22] M. Lin, P. Chandramani-Shivalingappa, H. Jin, A. Ghosh, V. Anantharam, S. Ali, A. G. Kanthasamy, A. Kanthasamy, Methamphetamine-induced neurotoxicity linked to ubiquitin-proteasome system dysfunction and autophagy-related changes that can be

modulated by protein kinase C delta in dopaminergic neuronal cells, *Neuroscience* 210 (2012) 308–332.

[23] S. Jayanthi, M. T. McCoy, G. Beauvais, B. Ladenheim, K. Gilmore, W. Wood III, K. Becker, J. L. Cadet, Methamphetamine induces dopamine D1 receptor-dependent endoplasmic reticulum stress-related molecular events in the rat striatum, *PLoS ONE* 4 (2009) e6092.

[24] K. D. McCullough, J. L. Martindale, L.-O. Klotz, T.-Y. Aw, N. J. Holbrook, Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state, *Molecular and Cellular Biology* 21 (2001) 1249–1259.

[25] D. Israeli, E. Tessler, Y. Haupt, A. Elkeles, S. Wilder, R. Amson, A. Telerman, M. Oren, A novel p53-inducible gene, PAG608, encodes a nuclear zinc finger protein whose overexpression promotes apoptosis, *The EMBO Journal* 16 (1997) 4384–4392.

[26] J. Zhu, Y. Chen, N. Zhao, G. Cao, Y. Dang, W. Han, M. Xu, T. Chen, Distinct roles of dopamine D₃ receptors in modulating methamphetamine-induced behavioral sensitization and ultrastructural plasticity in the shell of the nucleus accumbens, *Journal of Neuroscience Research* 90 (2012) 895–904.

[27] A. E. Higley, S. W. Kiefer, X. Li, J. Gaál, Z.-X. Xi, E. L. Gardner, Dopamine D₃ receptor antagonist SB-277011A inhibits methamphetamine self-administration and methamphetamine-induced reinstatement of drug-seeking in rats, *European Journal of Pharmacology* 659 (2011) 187–195.

[28] M. G. Baladi, A. H. Newman, S. M. Nielsen, G. R. Hanson, A. E. Fleckenstein, Dopamine D₃ receptors contribute to methamphetamine-induced alterations in dopaminergic neuronal function: role of hyperthermia, *European Journal of Pharmacology* 732 (2014) 105–110.

[29] X. Wang, S. Zhu, M. Drozda, W. Zhang, I. G. Stavrovskaya, E. Cattaneo, R. J. Ferrante, B. S. Kristal, R. M. Friedlander, Minocycline inhibits caspase-independent and -dependent mitochondrial cell death pathways in models of Huntington's disease, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (2003) 10483–10487.

[30] Y. Du, Z. Ma, S. Lin, R. C. Dodel, F. Gao, K. R. Bales, L. C. Triarhou, E. Chernet, K. W. Perry, D. L. G. Nelson, S. Luecke, L. A. Phebus, F. P. Bymaster, S. M. Paul Minocycline

prevents nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (2001) 14669–14674.

[31] Y. Zhang, J. Gao, K. K. K. Chung, H. Huang, V. L. Dawson, T. M. Dawson, Parkin functions as an E2-dependent ubiquitin-protein ligase and promotes the degradation of the synaptic vesicle-associated protein, CDCrel-1, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (2000) 13354–13359.

[32] R. L. Klein, R. D. Dayton, K. M. Henderson, L. Petrucelli, Parkin is protective for substantia nigra dopamine neurons in a tau gene transfer neurodegeneration model, *Neuroscience Letters* 401 (2006) 130–135.

[33] J. Nader, C. Rapino, B. Gennequin, F. Chavant, M. Francheteau, A. Makriyannis, A. Duranti, M. Maccarrone, M. Solinas, N. Thiriet, Prior stimulation of the endocannabinoid system prevents methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity in the striatum through activation of CB₂ receptors, *Neuropharmacology* 87 (2014) 214–221.

[34] L. Walter, A. Franklin, A. Witting, C. Wade, Y. Xie, G. Kunos, K. Mackie, Nephi Stella, Nonpsychotropic cannabinoid receptors regulate microglial cell migration, *The Journal of Neuroscience* 23 (2003) 1398–1405.