



بررسی اثر ماده مخدر متامفتامین بر سلول‌های بنیادی عصبی (رده سلولی SH-SY5Y) در مدل حیوانی رت

سمیه رستم‌خانی: دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
ID سید ابراهیم حسینی: استادیار، مرکز تحقیقات فناوری سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران (* نویسنده مسئول) mehrabad@outlook.com
داوود مهربانی: استادیار، مرکز تحقیقات سوختگی و ترمیم زخم، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
سید سارا هاشمی: استادیار، مرکز پزشکی تجربی و مقایسه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها
سلول SH-SY5Y،
متامفتامین،
رشد و تکثیر سلول

زمینه و هدف: سوء مصرف طولانی مدت متامفتامین دارای پیامدهای بسیاری؛ از جمله اعتیاد است. مشخص شده است که اعتیاد به امفتامین‌ها تأثیرات آناتومیکی و فیزیولوژیکی زیادی در مراکز مختلف مغز دارد و در نتیجه تغییرات روانی، رفتاری و حسی- حرکتی ایجاد می‌کند؛ بنابراین این تحقیق با هدف بررسی اثرات مصرف متامفتامین بر سلول‌های عصبی رده SH-SY5Y انجام گردید.

روش کار: در این مطالعه تجربی سلول‌های رده SH-SY5Y از انیستیتو پاستور ایران خریداری گردید و سپس در محیط DMEM به همراه ۱۰٪ سرم جنین گاوی، L-گلوتامین، پنی سیلین و استروپتومایسین در دمای ۳۷ درجه و ۵٪ CO₂ انکوباته شدند. پس از اطمینان از تکثیر سلول‌ها و رسیدن به تراکم لازم، سلول‌ها در پلاستیک چهارم، به گروه‌های کنترل و تجربی تحت تیمار با دوز ۰/۶ میلیمولار در طول مدت ۷ روز (۱۰ روز پس از کشت سلول‌ها) تقسیم شدند و رشد سلول‌های SH-SY5Y به روش فلوسایتومتری محاسبه گردید.

یافته‌ها: سلول‌های رده SH-SY5Y، ۲۴ ساعت بعد از انتقال به فلاسک کشت سلولی، به کف فلاسک به طور کامل چسبیدند و در ابتدا کروی بوده و بعد از ۲۴ ساعت دوکی شکل شدند. نتایج آزمون شمارش سلولی در روزهای ۱ تا ۷ نشان دهنده کاهش شدید رشد سلول‌های تیمار شده با متامفتامین در مقایسه با گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد سلول‌های SH-SY5Y در محیط کشت مشابه سلول‌های فیبروبلاستی، دوکی شکل شده و بر اساس نتایج حاصل از شمارش سلولی مشخص گردید که متامفتامین احتمالاً با اثرات سمیت سلولی و مهار رشد در رده سلولی SH-SY5Y را القاء کند.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Rostamkhani S, Hosseini SE, Mehrabani D, Hashemi SS. The Effect of Methamphetamine on Neuronal Stem Cells (SH-SY5Y cell line) in an Animal Model of a Mouse. Razi J Med Sci. 2023;29(12): 479-486.

*انتشار این مقاله بصورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.



Original Article

The Effect of Methamphetamine on Neuronal Stem Cells (SH-SY5Y cell line) in an Animal Model of a Mouse

Somaye Rostamkhani: PhD student, Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

Seyed Ebrahim Hosseini: Assistant Professor, Stem Cell Technology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran (* Corresponding Author) mehrabad@outlook.com

Dawood Mehrabani: Assistant Professor, Burn and Wound Repair Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Seyed Sara Hashemi: Assistant Professor, Experimental and Comparative Medicine Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Abstract

Background & Aims: The increasing use of methamphetamine, as a strong psychoactive drug, has caused severe concerns around the world. Abuse of glass or methamphetamine is considered a global problem for human health, especially in East and Southeast Asia as well as in North America due to its easy production and availability and cheap price. Methamphetamine increases the activity of the central nervous system and causes increased heart rate and blood pressure and even sudden death. Glass causes the discharge of dopamine terminals in the striatum, and in high doses, it also causes the discharge of serotonin terminals in the brain. Cognitive and movement disorders, attention, learning and memory, and brain damage are observed in glass users. Methamphetamine compounds in the central nervous system prevent the reabsorption of dopamine and other monoamine neurotransmitters and also facilitate the release of monoamine neurotransmitters into the synaptic spaces. Repeated use of methamphetamine drugs causes damage to dopaminergic and serotonergic nerve terminals in different parts of the brain. It leads to abnormalities such as anxiety, depression, and movement disorders such as Parkinson's disease. On the other hand, new evidence shows that addiction to narcotic drugs and amphetamines causes disruption in neurogenesis and weakens the function of neural stem cells/progenitors, and based on this, it has been claimed that this feature is one of the basic mechanisms of behavioral changes. In patients addicted to methamphetamine drugs. Therefore, it is possible to use stem cells/neural progenitors to reduce or treat the side effects caused by the use of methamphetamines. SH-SY5Y Neuroblastoma cell lines from the stem cell category (SH-SY5Y) are derived from immature neoplastic neural crest cells that display the properties of stem cells. These cells are derived from the bone marrow, which consists of a triple-cloned subset of SK-N-SH cells, and are widely used for neurological studies, focusing on neurotoxicity, protecting the nervous system against Neuropathogenic agents. It destroys nerve tissue, and is also used to differentiate neuron-like cells into cholinergic, adrenergic or dopaminergic neurons and to express one or more nerve fiber proteins. These cells also express opioid, muscarinic, and neurodevelopmental receptors. The SH-SY5Y neuronal cell line is able to express different alleles in various conditions and turn into nerve cells in front of compounds such as retinoic acid and neurogenic factors derived from the brain. Therefore, according to the mentioned characteristics and also the high ability of SH-SY5Y cells in long-term proliferation (without contamination) of nerve cells and taking into account the high

Keywords

SH-SY5Y cell, Methamphetamine, Cell growth and proliferation

Received: 07/01/2023

Published: 04/03/2023

and increasing consumption of methamphetamine substances, especially among young people and adolescents, and the effects of neurotoxicity. These substances in nerve cells, this study was conducted with the aim of investigating the cytotoxicity effect of methamphetamine on the SH-SY5Y cell line.

Methods: In this experimental study, SH-SY5Y cells were purchased from the Pasteur Institute of Iran and then incubated in DMEM medium with 10% fetal bovine serum, L-glutamine, penicillin, and streptomycin at 37 degrees and 5% CO₂. After ensuring the multiplication of the cells and reaching the necessary density, the cells in the fourth passage, to the control and experimental groups treated with a dose of 0.6 mmol for 7 days (10 days after the cultivation of the cells) were divided and the growth of SH-SY5Y cells was calculated by flow Cytometry.

Results: SH-SY5Y cells, 24 hours after being transferred to the cell culture flask, wholly adhered to the bottom of the flask and were initially spherical, and became spindle-shaped after 24 hours. The results of the cell counting test on days 1 to 7 showed a strong decrease in the growth of cells treated with methamphetamine compared to the control group.

Conclusion: The results of this study showed that SH-SY5Y cells were spindle-shaped in the culture medium, similar to fibroblast cells, and based on the results of cell counting, it was determined that methamphetamine probably has the effects of cytotoxicity and inhibition of growth in the SH- cell line. Methamphetamine leads to progressive neurological disorders, which can be due to the changes and damage in the brain tissue along with neuropsychiatric symptoms. Many other mechanisms have been proposed for methamphetamine-induced toxicity; including toxicity stimulation, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and Neuroinflammation which is caused by Microgliosis, Astrogliosis, and cytokine induction and leads to apoptosis and neurotoxicity in the central nervous system. One of the strengths of this study is the time-dependent investigation of the growth of SH-SY5Y nerve cells in the presence of methamphetamine, and this test was repeated within 7 days, But it would have been better if this experiment was done in vivo (animal) and by injecting amphetamine into the animal, a behavioral test was taken from the animals and its effect on SH-SY5Y nerve cells was investigated.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Rostamkhani S, Hosseini SE, Mehrabani D, Hashemi SS. The Effect of Methamphetamine on Neuronal Stem Cells (SH-SY5Y cell line) in an Animal Model of a Mouse. *Razi J Med Sci.* 2023;29(12): 479-486s.

***This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.**

مقدمه

استفاده روز افزون از متامفتامین، به عنوان یک داروی روانگردان قوی، باعث افزایش نگرانی‌های شدید یدر سراسر جهان شده است. سوء استفاده از شیشه یا متامفتامین به دلیل تولید و دسترسی آسان و قیمت ارزان آن، به عنوان یک مشکل جهانی برای سلامت انسان‌ها به ویژه در مناطق شرق و جنوب شرقی آسیا و همچنین در آمریکای شمالی مطرح است (۱). متامفتامین فعالیت سیستم عصبی مرکزی را افزایش داده و موجب بالا رفتن ضربان قلب و فشار خون و حتی مرگ ناگهانی می‌شوند (۲). شیشه سبب تخلیه پایانه‌های دوپامینی در اجسام مخطط و در دوزهای بالا سبب تخلیه پایانه‌های سروتونینی مغز نیز می‌شود (۳). در مصرف کنندگان شیشه، اختلالات شناختی و حرکتی، توجه، یادگیری و حافظه و آسیب‌های مغزی مشاهده می‌شود (۴). نشان داده شده است که مصرف متامفتامین منجر به افزایش دمای بدن، آزاد سازی گلو تامات، گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و مولکول‌های مرتبط با فرایند آپوپتوز می‌گردد (۵). نتایج حاصل از یک مطالعه نشان داده است که مصرف متامفتامین در افراد مصرف کننده باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و سمیت سلولی می‌گردد (۶). ترکیبات متامفتامینی در دستگاه عصبی مرکزی مانع باز جذب دوپامین و دیگر نوروترانسمیترهای تک آمین می‌شود و همچنین باعث تسهیل آزادسازی نوروترانسمیترهای مونوآمینی به درون فضاهای سیناپسی می‌گردد (۷). استفاده مکرر از داروهای متامفتامینی باعث آسیب به ترمینال‌های عصبی دوپامینرژیک و سروتونرژیک در بخش‌های مختلف مغز می‌شود و منجر به بروز ناهنجاری‌های نظیر اضطراب، افسردگی و نیز اختلالات حرکتی نظیر بیماری پارکینسون می‌گردد (۸). نتایج حاصل از پژوهش‌های مختلف نشان داده‌اند که متامفتامین باعث تغییر در بیان ژن‌های موثر در پاسخ‌های رفتاری، مرگ سلولی، مورفولوژی، رشد و تکثیر سلول، تمایز و تکوین سیستم عصبی و عملکرد آن شده و همچنین باعث تغییر در روند مسیره‌های متابولیکی طبیعی در فرایند تکوین، رشد و تمایز سلول‌های بنیادی یا پیش سازهای عصبی می‌شود (۹). از طرفی شواهد جدید نشان می‌دهند که اعتیاد به مواد

مخدر و آمفتامین‌ها باعث اختلال در نوروزن و تضعیف عملکرد سلول‌های بنیادی/پیشساز عصبی می‌شوند و بر این اساس ادعا شده است که این ویژگی یکی از سازوکارهای اساسی تغییرات رفتاری در بیماران معتاد به داروهای متامفتامینی می‌باشد (۱۰). بنابراین برای کاهش و یا درمان عوارض ناشی از مصرف متامفتامین‌ها می‌توان از سلول‌های بنیادی/پیش ساز عصبی استفاده کرد (۱۱). SH-SY5Y رده سلولی نوروبلاستوما از دسته سلول‌های بنیادی (SH-SY5Y) از سلول‌های تاج عصبی نئوپلاستیک نابالغ مشتق شده‌اند که خواص سلول‌های بنیادی را به نمایش می‌گذارند. این سلول‌ها مشتق از مغز استخوان هستند که از یک زیر مجموعه سه کلون شده از سلول‌های SK-N-SH تشکیل شده است (۱۲) و به طور گسترده برای مطالعات عصبی، تمرکز بر مسمومیت عصبی، حفاظت از دستگاه عصبی در مقابل عوامل نوروپاتوژن و تخریب کننده بافت عصبی و همچنین جهت تمایز سلول‌های شبه نرون به سلول‌های عصبی کولینرژیک، آدرنرژیک یا فنوتیپ‌های دوپامینرژیک و بیان یک یا چند پروتئین رشته عصبی استفاده می‌شود (۱۳). این سلول‌ها همچنین گیرنده‌های مواد افیونی، موسکارینی و رشد عصبی را بیان می‌کنند (۱۴). رده سلول‌های عصبی SH-SY5Y قادرند در شرایط گوناگون آل‌های متفاوتی را بروز داده و در مقابل ترکیباتی همانند رتینوئیک اسید و فاکتور نورونزایی مشتق شده از مغز به سلول‌های عصبی تبدیل شوند (۱۵). لذا با توجه به ویژگی‌های ذکر شده و همچنین توانایی بالای سلول‌های SH-SY5Y در تکثیر طولانی مدت (بدون آلودگی) سلول عصبی (۱۶) و با عنایت به مصرف زیاد و روز افزون از مواد متامفتامینی به ویژه در بین جوانان و نوجوانان و اثرات نوروکسیسیتی این مواد در سلول‌های عصبی، این مطالعه با هدف بررسی اثر سیتوتوکسیسیته متامفتامین بر روی رده سلولی SH-SY5Y انجام گردید.

روش کار

جهت کشت سلول‌های عصبی رده SH-SY5Y، ابتدا سلول‌های عصبی رده SH-SY5Y از انیستیتو پاستور ایران خریداری و سپس این سلول‌ها در محیط حاوی DMEM/f12، ۱۰٪ سرم گاو جنین و ۱٪ پنی سیلین-

حاوی محیط ساده و دارو بود ۱۸ میلی لیتر دیگر محیط ساده اضافه گردید؛ بنابراین رقیق سازی انجام شد و به دوز ۰/۶ رسیده؛ سپس یکبار در روز به سلول‌ها اضافه و نتایج بدست آمده؛ ثبت گردید.

منحنی رشد سلولی قبل و پس از مواجهه با متامفتامین در دو زمان مختلف (قبل از اثر و پس از اثر دادن دارو) رسم گردید. سلول‌های رده SH-SY5Y در ۳ پلیت ۲۴ خانه کشت داده شدند. در ابتدا در هر چاهک ۲۲۵۰۰ سلول اضافه گردید؛ سپس یک پلیت به عنوان کنترل و پلیت دیگر تحت عنوان دوز کاربردی (گروه دریافت کننده متامفتامین پس از ۲۴ ساعت، با تعویض محیط) مورد استفاده قرار گرفت. جهت رسم نمودار رشد سلول در حالت نرمال از سلول‌های پلیت کنترل استفاده گردید؛ به این ترتیب که پس از گذشت ۱۰ روز از زمان شروع کشت یکبار در روز، سلول‌ها در تمامی پلیت‌ها با کمک لام نئوبار شمارش و اعداد ثبت شد. در پایان روز دهم و پس از آخرین شمارش نمودار رشد نرمال با توجه به داده‌های بدست آمده از شمارش سلول‌های پلیت کنترل رسم گردید. سپس نمودار رشد سلول مربوط به سلول‌های تیمار شده با متامفتامین با توجه به داده‌های بدست آمده از شمارش پلیت دوز ۰/۶ رسم گردید.

اطلاعات به دست آمده در این پژوهش؛ شامل درصد بیان سلول‌های بنیادی SH-SY5Y و درصد کشنندگی METH، توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ انجام شد و سطح معنی داری $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

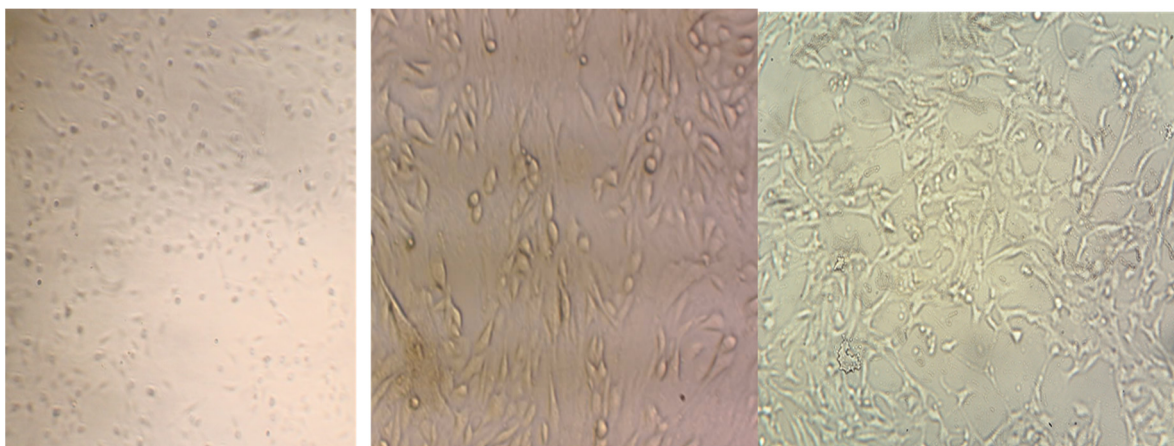
یافته‌ها

همانطور که در شکل شماره ۱ مشاهده می‌شود، سلول‌های عصبی رده SH-SY5Y، پس از گذشت ۱۲ ساعت بعد از انتقال به فلاسک کشت سلولی، به کف فلاسک چسبیدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، سلول‌ها کاملاً چسبیده و دوکی شکل و شبیه سلول‌های فیبروبلاست شدند. این سلول‌ها پس از پاساژ سوم (حدود ده روز پس از کشت اولیه) دارای ظاهری

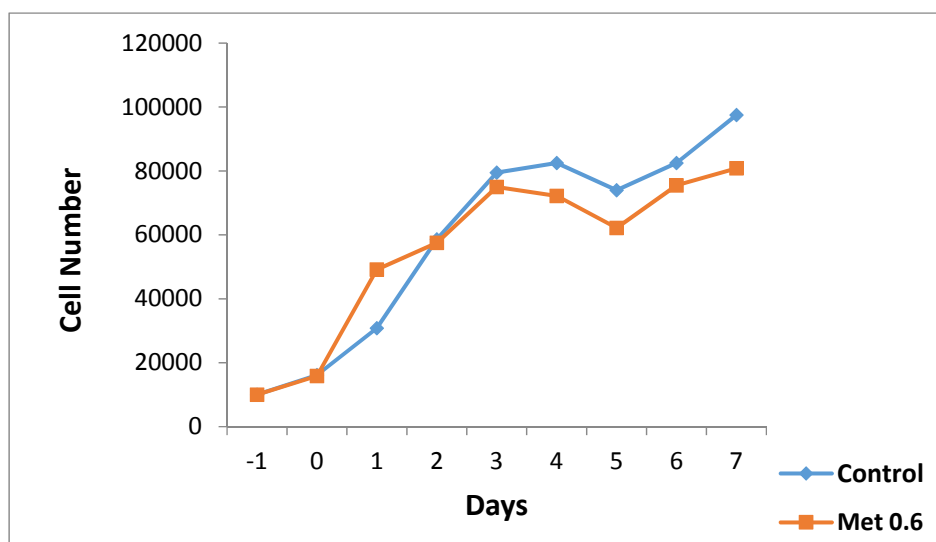
استرپتو مایسین در انکو باتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، ۵٪ CO₂ و رطوبت ۹۵٪ کشت داده شدند. فلاسک‌های حاوی سلول و محیط، هر روز بررسی شدند و میزان رشد سلول‌ها با میکرو سکوپ invert مشاهده گردید. نتایج نشان داد که تکثیر سلول‌ها به خوبی پیش رفته و سلول‌ها به تراکم لازم برای مرحله پاساژ رسیده بودند. پاساژ اول تقریباً پس از ۸ روز از نمونه‌گیری انجام گردید. پس از گذشت ۷ الی ۸ روز از پاساژ دوم، شمارش سلولی فلاسک‌ها آغاز شد. پاساژ سوم نمونه‌ها، پس از گذشت ۶ روز مجدداً انجام گردید.

جهت جدا شدن سلول‌ها از کف فلاسک آنزیم تریپسین (Bio idea Group) به فلاسک اضافه شد؛ سپس به منظور توقف عمل آنزیم ۵ میلی لیتر محیط کشت کامل حاوی ۱۰٪ FBS به آن اضافه شد. سو سپانسیون سلولی به مدت ۵ دقیقه در سانتیفریوژ 1500 rpm و دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد. رسوب سلولی با ۵ میلی لیتر محیط کشت جدید مخلوط گردید و سو سپانسیون سلولی به فلاسک T25 انتقال داده شد و مجدداً در ۳۷ درجه سانتیگراد، در حضور ۵٪ CO₂ و در رطوبت حداکثر انکوبه شد تا پس از ۲۴ ساعت مورد بررسی و استفاده قرار گیرند.

جهت نحوه مواجهه متامفتامین با سلول‌های عصبی رده SH-SY5Y، ابتدا مقدار ۲۳ میلی گرم از متامفتامین وزن گردید و سپس این مقدار ماده را به فالكون ۱۵ میلی لیتر انتقال داده و تا حجم ۱۵، فالكون با PBS پر گردید. ماده به خوبی حل و سپس در بنماری قرار داده شد. از قبل سلول‌ها در ۳ پلیت ۱۲ ول با تعداد ۳۷۰۰۰ سلول در هر ول کشت داده شده بودند را پس از رشد سلول‌ها و رسیدن ۰/۱۲ یکبار و به تعداد مطلوب، پلیت‌های سلولی گروه بندی شدند. به این نحو که گروه کنترل و گروهی که دوز ۰/۶ را یکبار دریافت می‌کردند. پلیت کنترل هر روز در ساعت ۱۰ صبح تعویض محیط و همزمان شمارش نیز می‌گردید؛ اما دارویی تزریق نمی‌شد. در فالكون ۵۰ دیگر، مقدار ۲۲ میلی لیتر محیط کشت ساده ریخته شد و از فالكون ۱۵ حاوی 132 از محلول متامفتامین به فالكون ۵۰ اضافه گردید و به خوبی حل شد؛ سپس به همان فالكون ۵۰ که



شکل ۱- تصویر میکروسکوپی سلول‌های جداسازی شده از سلول‌های بنیادی SH-SY5Y موش صحرایی



نمودار ۱- نمودار رشد سلول‌های عصبی SH-SY5Y در گروه کنترل (بدون مواجهه با متامفتامین) و گروه تیمار (در مواجهه با متامفتامین) در روزهای مختلف

روز دوم و پنجم به کمترین تعداد خود رسید؛ همچنین به لحاظ شهودی با گذشت زمان اختلاف بین دو گروه در حال افزایش است که این امر حاکی از اثر وابسته به زمان METH بر سلول‌های عصبی SH-SY5Y می‌باشد.

بحث

متامفتامین دارویی با فعالیت گسترده و اثر اعتیادآوری قدرتمند است. درک سمیت متامفتامین مهمترین چیزی است که در زمینه سوء مصرف مواد وجود دارد (۱۶). متامفتامین، رایجترین دارویی است که در حالت سوء مصرف، به عنوان یک روانگردان محسوب شده و

یکنواخت و هموزن بودند و برای مراحل بعدی مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. سلول‌های رده SH-SY5Y با سرعت زیادی تقسیم می‌شدند؛ به طوری که بعد از اولین پاساژ سلولی زمان دو برابر شدن سلول‌ها تقریباً دو روز بود. این سلول‌ها پس از پاساژ سوم، حدود ده روز پس از کشت اولیه، دارای ظاهری یکنواخت و هموزن بودند و برای مراحل بعدی مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند.

با توجه به نتایج و آنالیز داده‌ها در نمودار شماره ۱، سلول‌ها در گروه دریافت کننده متامفتامین در مقایسه با گروه کنترل از روز دوم کاهش رشد را نشان دادند، در

بسیاری از سازوکارهای دیگر برای سمیت ناشی از متامفتامین مطرح شده است؛ از جمله تحریک سمیت، استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد میتوکندری و التهاب عصبی که با استفاده از میکروگلیوز، آستروگلیوز و القاء سیتوکین ایجاد می‌شود و منجر به بروز آپوپتوز و سمیت عصبی در سیستم عصبی مرکزی می‌شود (۴). در همین راستا نتایج برخی مطالعات نشان داد که متامفتامین ترکیبی محرک است که به آسانی به سیستم عصبی مرکزی نفوذ می‌کند. قرار گرفتن در معرض مکرر در برابر متامفتامین باعث آسیب در آکسون‌های دوپامینرژیک و سروتونرژیک مناطق منتخب مغز می‌شود (۱۲). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که متامفتامین می‌تواند باعث القاء اثرات سمیت سلولی و مهار رشد در سلول‌های بنیادی SH-SY5Y گردد (۶).

از نقاط قوت این مطالعه بررسی رشد سلول‌های عصبی SH-SY5Y در حضور متامفتامین به صورت وابسته به زمان بوده است و طی ۷ روز این تست تکرار شد؛ اما بهتر بود که این آزمایش در شرایط *In vivo* (حیوان) نیز انجام می‌شد و با تزریق آمفتامین به حیوان، آزمون رفتاری از حیوانات گرفته و اثر آن روی سلول‌های عصبی SH-SY5Y بررسی می‌شد.

نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که متامفتامین دارای اثرات سمیت سلولی وابسته به زمان دارد و موجب کاهش رده سلول‌های عصبی SH-SY5Y می‌شود و از این طریق طبق مطالعات پیشین موجب اختلالات شناختی، حرکتی، توجه، یادگیری، حافظه می‌شود.

References

1. Bell M, Zempel H. SH-SY5Y-derived neurons: a human neuronal model system for investigating TAU sorting and neuronal subtype-specific TAU vulnerability. *Rev Neurosci*. 2021;33(1):1-15.
2. Bell M, Bachmann S, Klimek J, Langerscheidt F, Zempel H. Axonal TAU Sorting Requires the C-terminus of TAU but is Independent of ANKG and TRIM46 Enrichment at the AIS. *Neuroscience*.

توسط بیش از ۲۴ میلیون نفر در سراسر جهان مورد سوءمصرف قرار می‌گیرد و همچنین به عنوان محبوب‌ترین روانگردان در جهان شناخته شده است (۱). از طرفی استفاده از متامفتامین در دوزهای بالاتر می‌تواند باعث روان پریشی، خونریزی در مغز، تجزیه عضلات اسکلتی و تشنج شود؛ علاوه بر این اگر به طور مزمین استفاده شود؛ می‌تواند باعث رفتار خشونت آمیز، نوسانات خلقی و روان پریشی؛ مانند پارانوئا، هذیان، توهمات شنیداری و بینایی شود (۳). بنابراین سوءمصرف به یکی از مشکلات اساسی در جوامع تبدیل شده و شیوع آن در بین جوانان بیشتر شده است؛ به طوریکه اعتیاد به متامفتامین با عوارض جانبی و جبرانناپذیر همراه است که یک مشکل سلامت عمومی در جوامع به شمار می‌رود. با توجه به بیشتر مطالعات اثرات سوءمصرف متامفتامین بطور عمده بر روی سیستم اعصاب مرکزی می‌باشد که در صورت مصرف مکرر موجب تغییرات ژنی، ساختار بافتی و فاکتورهای ایمنی می‌شود (۱۰). بررسی‌های ایمونولوژیک و مکانیسم‌های مولکولی توسط متامفتامین بر روی مغز نمایانگر یک پنجره گسترده برای درک مغز معتاد و انواع اختلالات عصبی روانی است. این مطالعه نیز با اثر ماده اعتیادآور بر سلول‌های بنیادی عصبی همپوشانی دارد. نتایج این مطالعه نشان داد که رشد سلول‌های بنیادی عصبی SH-SY5Y در مواجهه با متامفتامین در مقایسه با گروه کنترل در روزهای مختلف کمتر بود و با افزایش زمان تیمار، اختلاف بین دو گروه در حال افزایش بود که این امر حاکی از اثر وابسته به زمان داروی متامفتامین بر سلول‌های عصبی SH-SY5Y می‌باشد. مطالعات دیگران نیز نتایج مشابهی را نشان داد؛ به طوری که نتایج برخی مطالعات نشان داد که تزریق متامفتامین می‌تواند باعث آسیب سلول‌های مغزی و منجر به کاهش بقای سلول و فعالیت عصبی شود (۸). مطالعه دیگری نشان داد که دوزهای بالا به ویژه با القای مرگ سلولی می‌تواند به بخش‌هایی از مغز؛ مانند هیپوکامپ آسیب برساند (۹). متامفتامین منجر به اختلال عصبی پیشرونده می‌شود که این اثر می‌تواند به دلیل تغییرات و آسیب‌های موجود در بافت مغز به همراه علائم عصبی روانی باشد.

2021;461:155-171.

3. Tjiang N, Zempel H. A mitochondria cluster at the proximal axon initial segment controls axodendritic TAU trafficking in rodent primary and human iPSC-derived neurons. *Cell Mol Life Sci.* 2022;79(2):120.

4. Zempel H, Mandelkow E. Lost after translation: missorting of Tau protein and consequences for Alzheimer disease. *Trends Neurosci.* 2014;37(12):721-32.

5. Zempel H, Mandelkow EM. Tau missorting and spastin-induced microtubule disruption in neurodegeneration: Alzheimer Disease and Hereditary Spastic Paraplegia. *Mol Neurodegener.* 2015;10:68.

6. Lopez-Suarez L, Awabdh SA, Coumoul X, Chauvet C. The SH-SY5Y human neuroblastoma cell line, a relevant in vitro cell model for investigating neurotoxicology in human: Focus on organic pollutants. *Neurotoxicology.* 2022;92:131-155.

7. Peng Y, Chu S, Yang Y, Zhang Z, Pang Z, Chen N. Neuroinflammatory In Vitro Cell Culture Models and the Potential Applications for Neurological Disorders. *Front Pharmacol.* 2021;12:671734.

8. Calabrese EJ, Calabrese V, Giordano J. Putative hormetic mechanisms and effects of atypical antipsychotic agents: Implications for study design and clinical psychopharmacotherapeutics. *Chem Biol Interact.* 2021;333:109327.

9. Suzuki A, Urano Y, Ishida T, Noguchi N. Different functions of vitamin E homologues in the various types of cell death induced by oxysterols. *Free Radic Biol Med.* 2021;176:356-365.

10. Muñoz SS, Petersen D, Marlet FR, Kücükköse E, Galvagnion C. The interplay between Glucocerebrosidase, α -synuclein and lipids in human models of Parkinson's disease. *Biophys Chem.* 2021;273:106534.

11. Mohi-Ud-Din R, Mir RH, Wani TU, Shah AJ, Banday N, Potttoo FH. Berberine in the Treatment of Neurodegenerative Diseases and Nanotechnology Enabled Targeted Delivery. *Comb Chem High Throughput Screen.* 2022;25(4):616-633.

12. Nardi M, Brocchini S, Somavarapu S, Procopio A. Hydroxytyrosol oleate: A promising neuroprotective nanocarrier delivery system of oleuropein and derivatives. *Int J Pharm.* 2023;631:122498.

13. Gordon MH, Paiva-Martins F, Almeida M. Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *J Agric Food Chem.* 2001;49(5):2480-5.

14. Paiva-Martins F, Rodrigues V, Calheiros R, Marques MP. Characterization of antioxidant olive oil biophenols by spectroscopic methods. *J Sci Food Agric.* 2011;91(2):309-14.

15. Imran M, Nadeem M, Gilani SA, Khan S, Sajid MW, Amir RM. Antitumor Perspectives of Oleuropein and Its Metabolite Hydroxytyrosol: Recent Updates. *J Food Sci.* 2018;83(7):1781-1791.

16. Chaari A. Inhibition of human islet amyloid polypeptide aggregation and cellular toxicity by oleuropein and derivatives from olive oil. *Int J Biol Macromol.* 2020;162:284-300.