مقاله تحقیقی

اثر ال-کارنیتین بر فرآیند به یادآوری حافظه با استفاده از شیوه احترازی غیرفعال در موش‌های صحرایی بالغ سالم و اوریکتومی شده

اکرم عیدی [*۱]، نسرین ابوالحسن پور [۲]، علی حائری روحانی [۳]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی، تهران، ایران

* **مسؤول مکاتبات:** اکرم عیدی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی، تهران، پست الکترونیکی: eidi@srbiau.ac.ir

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، مجتمع آزمایشگاهی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۴ تاریخ پذیرش: ۹۰/۵/۱۸

چکیده

ال- کارنیتین (L-carnitine) در چندین فرآیند فیزیولوژیک و فارماکولوژیک دخالت‌کننده در روند پیری نقش دارد. در تحقیق حاضر، اثر ال- کارنیتین بر به‌یادآوری حافظه با استفاده از شیوه احترازی غیرفعال در موش‌های صحرایی سالم و اوریکتومی شده بررسی گردید. ال-کارنیتین، در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی به موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار سالم و اوریکتومی شده به مدت ۳۰ روز تیمار گردید. پس از گذشت دوره تیمار، میزان به‌یادآوری حافظه با استفاده از شیوه احترازی غیرفعال در حیوانات سالم و اوریکتومی شده، بررسی گردید. نتایج نشان داد که تیمار خوراکی ال-کارنیتین در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب افزایش معنی‌داری در میزان زمان تاخیر در ورود به اطاق تاریک و کاهش معنی‌داری بر مدت زمان قرارگیری در بخش تاریک در موش‌های صحرایی ماده بالغ سالم و اوریکتومی شده می‌شود. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، ال-کارنیتین همچنین موجب افزایش بیادآوری حافظه در موش‌های صحرایی سالم و اوریکتومی شده می‌گردد. بنابراین پیشنهاد می‌شود که ال- کارنیتین بعنوان یک داروی جایگزین برای تقویت به یادآوری حافظه در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: ال– کارنیتین (L-Carnitine)، اوریکتومی، حافظه، موش‌صحرایی

مقدمه

ال– کارنیتین (تری-متیل‌آمینو-β-هیدروکسی بوتیرات) در سلول‌ها و بافت‌ها به‌صورت کارنیتین آزاد و یا آسیل‌کارنیتین‌هایی مانند استیل-ال-کارنیتین وجود دارد. ال-کارنیتین ترکیب اندوژن آمونیوم چهارگانه طبیعی است که در همه گونه‌های پستانداران وجود داشته و یک کوفاکتور حیاتی برای اکسیداسیون اسیدهای چرب میتوکندریایی است (۱). ال- کارنیتین در بدن ابتدا به‌صورت غیراستریفیه وجود دارد، اما اغلب به شکل ترکیبات استری (آسیل‌کارنیتین‌ها) شامل استیل-L-کارنیتین (Acetyl-L-carnitine, ALC)، پروپیونیل-ال-کارنیتین و پالمیتوئیل-ال-کارنیتین دیده می‌شود. انسان بخش اعظم کارنیتین را از مواد غذایی (۷۵٪) شامل گوشت و لبنیات (۲،۳) و

باقی‌مانده آن (۲۵٪) را از فرم‌های سنتز شده اندوژن دریافت می‌نماید. این بخش از L- لیزین و L-متیونین در کلیه سنتز می‌شود (۴). نقش اصلی کارنیتین، انتقال اسیدهای چرب به داخل میتوکندری سلول برای تغییر آن‌ها است که این عمل را از طریق بتا-اکسیداسیون اسیدهای چرب انجام می‌دهد. به علاوه، کارنیتین در کنترل نسبت میتوکندریایی Acyl-COA/COA، اکسیداسیون پراکسیزومی اسیدهای چرب و تولید اجسام کتونی دخالت دارد (۵). اسیدهای چرب که به عنوان مواد انرژی‌زا در تمامی بافت‌ها مصرف می‌شوند، گلوکز ماده انرژی‌زای اصلی در مغز افراد بالغ را نیز تشکیل می‌دهند. اخیراً اثبات شده است که اسیدهای چرب به وسیله مغز به عنوان یک ماده انرژی‌زا به خوبی استفاده می‌شوند (۶). اسیدهای چرب، از طریق بتا-اکسیداسیون، تحت‌تاثیر قرار می‌گیرند، بخش ضروری در ساختار لیپیدهای سلول (۷) و نقش مهمی در میزان استیل-کوآ آزاد بدن دارا هستند. در واقع، نقش اصلی دیگر سیستم کارنیتین در سیستم عصبی مرکزی، انتقال استیل-کوآ از میتوکندری به داخل سیتوپلاسم است و به موجب آن، گروه‌های استیل در سنتز نوروترانسمیتر استیل‌کولین به کار گرفته می‌شوند. بنابراین، کارنیتین می‌تواند عملکردهای نوروفیزیولوژیکی و نوروشیمیایی در مغز داشته باشد (۸). ALC می‌تواند در مقابل استرس اکسیداتیو، نقش حفاظتی داشته باشد (۹). ALC تولید فاکتور رشد عصبی (Nerve growth factor, NGF) و اتصال NGF به گیرنده‌اش در *in vivo* را افزایش می‌دهد (۱۰،۱۱). NGF توسعه و رشد نورونی و حفاظت نورون‌ها در سیستم عصبی مرکزی و محیطی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۰).

لوب گیجگاهی، قسمت تعیین کننده تبدیل حافظه و خاطرات جدید به حافظه بلندمدت است و از این فرآیند، تحت عنوان تقویت حافظه یاد می‌شود (۱۲). آسیب ویژه در منطقه CA_1 هیپوکامپ، سبب از بین‌رفتن توانایی شکل‌دهی خاطرات جدید، اشخاص، مکان‌ها و حوادث می‌شود (۱۳). حافظه به وسیله هماهنگی نورونی تولید می‌شود، بدین ترتیب که وقتی دو سلول عصبی متصل با هم در یک زمان فعال هستند، نیروی اتصال سیناپتیک آن‌ها افزایش می‌یابد و این تعامل، اساس ماندگاری حافظه است. افزایش در انتقال سیناپتیک که اغلب به وسیله دامنه و شیب پتانسیل پس‌سیناپسی تحریکی Excitatory Post-Synaptic Potential: (EPSP) مطرح می‌شود، می‌تواند ساعت‌ها در *in vitro* و روزها و هفته‌ها در *in vivo* به طول انجامد و دوام داشته باشد.

از این پدیده تحت عنوان بنام تقویت طولانی مدت (Long Term Potentiation: LTP) یاد می‌شود (۱۴). زنان در دوران یائسگی، مستعد ابتلا به عدم عملکرد شناختی هستند (۱۵). اگرچه، درمان جایگزین استروژن (Estrogen Replacement Therapy: ERT) در زنان دچار یائسگی، بعضی از اختلالات شناختی وابسته با کمبود استروژن را مخصوصاً در حیطه شفاهی یا کلامی (verbal)، کاهش می‌دهد (۱۶)، اما در عوض، خطر سرطان‌های سینه و رحم را افزایش می‌دهد (۱۷). گیرنده‌های استروژن در منطقه هیپوکامپ پریمات‌ها حضور دارند (۱۸). استروژن، مورفولوژی و فیزیولوژی هیپوکامپ را تحت‌تاثیر قرار می‌دهد (۱۹). استروژن ناحیه فوربرین بازال موش‌صحرایی را تحت‌تاثیر قرار داده، بر نورون‌های کولینرژیک ارسال شده به هیپوکامپ و کورتکس مغز اثر می‌گذارد (۲۰). یکی از اعمال استروژن، دخالت در تشکیل سیناپس در مغز موش‌های ماده است. بخش‌های مختلف مغز به مقادیر مختلف استروژن پاسخ می‌دهند و گیرنده استروژن، نقش مهمی در هیپوکامپ ایفاء می‌کند.

در تحقیق حاضر، اثر تیمار خوراکی ال- کارنیتین بر موش‌های صحرایی ماده بالغ اوریکتومی شده و سالم، بر به یادآوری حافظه با استفاده از شیوه احترازی غیرفعال، بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

حیوانات

موش‌های صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم، از انستیتو پاستور ایران خریداری گردیدند. موش‌ها در اتاق حیوانات با درجه حرارت کنترل شده ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و

دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، نگهداری شدند و آب و غذای کافی همواره در دسترس آن‌ها قرار داشت.

جراحی اوریکتومی حیوانات

حیوانات توسط زایلزین و کتامین و به نسبت وزن بدن، بیهوش شدند. محل جراحی پس از ضدعفونی شدن، به طول ۱ سانتی‌متر، برش داده شده و هر دو تخمدان، همراه با چربی‌های اطراف آن، برداشته شد و سر لوله رحمی بخیه زده شد. برای ضدعفونی محل جراحی، از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین استفاده گردید. اوریکتومی به‌صورت دو طرفه انجام گرفت.

نحوه تیمار

ال– کارنیتین، روزانه به صورت خوراکی از طریق لوله intragastric تیمار گردید. حجم ماده تیمار شده در تمامی گروه‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر و مدت زمان تیمار، ۳۰ روز بود. حیوانات در آزمایش‌ها به دو دسته سالم و اوریکتومی شده تقسیم شدند.

گروه ۱: حیوانات سالم که توسط سرم فیزیولوژیک در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر و مدت زمان ۳۰ روز به صورت روزانه تیمار شدند.

گروه‌های ۲، ۳ و ۴: حیوانات سالم که توسط ال-کارنیتین در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر و در غلظت‌های ۱ و ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و به مدت زمان ۳۰ روز به صورت روزانه تیمار شدند.

گروه ۵: حیوانات اوریکتومی شده که توسط سرم فیزیولوژیک در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر و مدت زمان ۳۰ روز به صورت روزانه تیمار شدند.

گروه‌های ۶، ۷ و ۸: حیوانات اوریکتومی شده که توسط ال-کارنی‌تین در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر و در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و به مدت زمان ۳۰ روز به صورت روزانه تیمار شدند.

آموزش حیوانات و تعیین میزان یادگیری

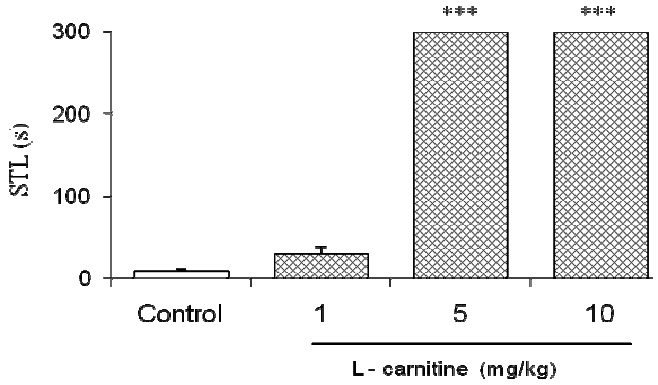
برای آموزش حیوانات، از روش احترازی غیرفعال (Passive Avoidance Learning) استفاده شد. اساس این نوع یادگیری، برقراری ارتباط بین دو محرک شرطی (نور) و غیرشرطی (شوک الکتریکی) است. جهت تعیین سطح تثبیت حافظه (Consolidation) و سطح به یادآوری (Retention)، ۲۴ ساعت پس از جلسه آموزش، تست یادگیری توسط دستگاه شاتل باکس انجام شد. زمان ۳۰۰ ثانیه برای تاخیر زمانی در ورود به بخش تاریک (Step Through Latency: STL) و مدت زمان قرار گرفته در بخش تاریک (Time in Dark Compartment: TDC) در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری داده‌ها

تمامی داده‌ها از نظر آماری، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One – Way ANOVA) و تست Tukey بررسی گردیدند. نتایج به صورت Mean±S.E.M. ارائه گردید. ملاک استنتاج آماری، $p< ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

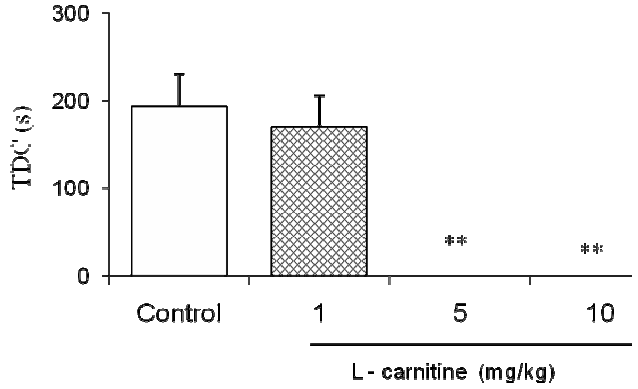
نتایج

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار خوراکی ال-کارنیتین در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب افزایش معنی‌دار در میزان STL در موش‌های صحرایی ماده بالغ سالم، در مقایسه با گروه کنترل می‌شود ($P<۰/۰۰۱$) (نمودار ۱).



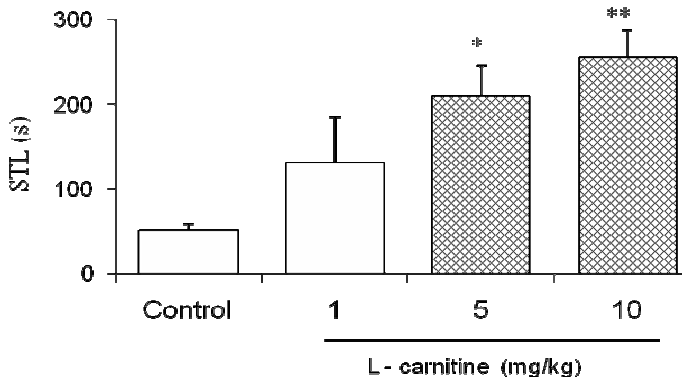
نمودار ۱ - اثر تیمار خوراکی ال- کارنیتین در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در موش‌های صحرایی ماده بالغ سالم بر مدت زمان احتراز از ورود به اتاق تاریک (Step through latency: STL) بر حسب ثانیه. مدت تیمار ۳۰ روز و حجم تیمار، ۰/۵ میلی‌لیتر است. هر ستون بر اساس میانگین ± انحراف از معیار (Mean ± S.E.M.) هر گروه تنظیم شده است. تعداد حیوانات در هر گروه، ۶ سر است. ***P <۰/۰۰۱: اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار خوراکی ال- کارنیتین در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش معنی‌دار در میزان TDC در موش‌های صحرایی ماده بالغ سالم، در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد (P<۰/۰۱) (نمودار ۲).



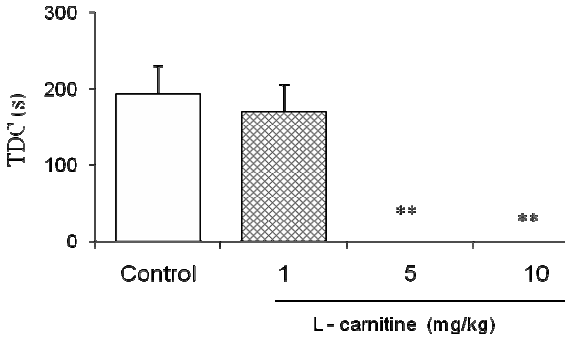
نمودار ۲ - اثر تیمار خوراکی ال- کارنیتین در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در موش‌های صحرایی ماده بالغ سالم بر مدت زمان سپری شده در اطاق تاریک (Time in dark compartment: TDC) بر حسب ثانیه. مدت تیمار، ۳۰ روز و حجم تیمار ۰/۵ میلی‌لیتر است. هر ستون، بر اساس میانگین ± انحراف معیار (Mean ± S.E.M.) هر گروه تنظیم شده است. تعداد حیوانات در هر گروه، ۶ سر می‌باشد. **P <۰/۰۱: اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار خوراکی ال- کارنیتین موجب افزایش معنی‌دار در غلظت ۵ (P<۰/۰۵) و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در میزان STL در موش‌های صحرایی ماده بالغ اوریکتومی شده، در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (P<۰/۰۱) (نمودار ۳).



نمودار ۳ - اثر تیمار خوراکی ال- کارنی‌تین در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در موش‌های صحرایی ماده بالغ اوریکتومی شده بر مدت زمان احتراز از ورود به اتاق تاریک (Step Through Latency: STL) بر حسب ثانیه. مدت تیمار، ۳۰ روز و حجم تیمار، ۰/۵ میلی‌لیتر است. جدول، بر اساس میانگین ± انحراف معیار (Mean ±S.E.M.) هر گروه، تنظیم شده است. تعداد حیوانات در هر گروه، ۶ سر است. ۰/۰۵> p *، ۰/۰۱> p **: اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهند.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار خوراکی ال- کارنیتین موجب کاهش معنی‌دار در غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در میزان TDC در موش‌های صحرایی ماده بالغ اوریکتومی شده، در مقایسه با گروه کنترل می‌شود (P<۰/۰۵) (نمودار ۴).



نمودار ۴- اثر تیمار خوراکی ال- کارنیتین در غلظت‌های ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در موش‌های صحرایی ماده بالغ اوریکتومی شده بر مدت زمان سپری شده در اطاق تاریک (Time in dark compartment: TDC) بر حسب ثانیه. مدت تیمار، ۳۰ روز و حجم تیمار، ۰/۵ میلی‌لیتر است. جدول، بر اساس میانگین ± انحراف معیار (Mean ± S.E.M.) هر گروه، تنظیم شده است. تعداد حیوانات در هر گروه، ۶ سر است (N=۶). ۰/۰۵> p *، ۰/۰۱> p **: اختلاف از گروه کنترل را نشان می‌دهند.

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار خوراکی ال-کارنیتین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، موجب افزایش معنی‌دار در میزان به یادآوری حافظه در موش‌های صحرایی ماده بالغ سالم و اوریکتومی شده می‌شود.

نورون‌ها برای انرژی مورد نیاز خود به تولید ATP میتوکندریایی وابسته هستند و زمانی‌که میزان ATP حتی به مدت کوتاه کاهش می‌یابد، در معرض خطر قرار می‌گیرند. آسیب به میتوکندری، سبب اختلال در تولید ATP و ROS می‌شود که می‌تواند سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول را در هم بشکند (۲۱). چنین نقص‌های میتوکندریایی می‌تواند کلید اصلی وقایع آسیب‌رسان در آبشارهایی باشد که سبب نکروز و آپوپتوز نورون‌ها می‌شود (۲۲). میتوکندری، نقش تعیین کننده و مهمی در توازن اکسیژن در نورون‌های مغز دارد که در هیچ جای دیگری از بدن به اهمیت مغز نیست. اگرچه مغز، فقط ۲ درصد از وزن بدن را تشکیل می‌دهد، با این حال ۱۵ درصد از اکسیژن خروجی قلبی را دریافت نموده و به عنوان مصرف کننده ۲۰ درصد از کل اکسیژن بدن محسوب می‌شود. این نیاز فوق‌العاده مغز به انرژی، بوسیله انرژی مورد نیاز برای حفظ شیب یون‌ها در عرض غشای پلاسمایی نورونی که برای تولید پتانسیل عمل مهم است، ایجاد می‌شود (۲۳). اغلب بیماری‌های ناشی از اختلال میتوکندریایی، در ارتباط با نقص در سیستم انتقال الکترونی است که تولید رادیکال آزاد را افزایش و تولید انرژی را کاهش می‌دهد. سیستم‌هایی که در بیماری‌های میتوکندریایی در معرض خطر هستند، شامل سیستم تنفسی و بافت‌هایی با طول عمر زیاد که از نظر متابولیکی فعال هستند، همانند سیستم عصبی مرکزی و محیطی‌اند (۲۴).

اثرات حفاظت نورونی استروژن، محدود به زنان نیست و در مردان نیز به همان نسبت دیده می‌شود (۲۵). مطالعات زیادی این احتمال را نشان می‌دهند که استروژن، اثرات حفاظت نورونی خود را از طریق مکانیسم میتوکندریایی اعمال می‌کند. جایگاه‌های اتصال استروژن در میتوکندری شامل F0/F1 ATPase مشاهده شده (۲۶) و همچنین مشخص شده است که گیرنده بتا-استروژن، در میتوکندری قرار دارد. علاوه بر آن، استروژن، غلظت و مکان‌یابی پروتئین آنتی-آپوپتوتیک را تحت‌تاثیر قرار داده (۲۷)، بنابراین، احتمالا استروژن، اثرات آنتی-آپوپتوتیک خود را با حفظ پتانسیل غشای میتوکندری اعمال می‌کند. بر اساس نقش میتوکندری در مرگ سلولی، این امر قابل قبول است که میتوکندری، جایگاه اصلی اثرات حفاظت نورونی استروژن است (۲۳). استروژن‌ها می‌توانند عملکرد میتوکندریایی را به‌وسیله اثرات مستقیم و غیرمستقیم بر میزان ذخیره Ca^{2+} میتوکندریایی، تحت تاثیر قرار دهند. به‌علاوه، جایگزینی استروژن در حال گردش، به میزان چشمگیری، عملکرد شناختی در میمون‌های ماده اوریکتومی شده را افزایش می‌دهد (۲۸). همچنین، جایگزینی استروژن، عملکرد موش‌های اوریکتومی شده را در آزمون‌های حافظه همچون ماز آبی و ماز شعاعی و همچنین در شیوه اجتنابی فعال (Active Avoidance Task) بهبود می‌بخشد (۲۹،۳۰). مطالعات دیگر، نشان‌دهنده افزایش حافظه توسط تیمار استروژن در حیوانات اوریکتومی شده است (۳۱).

استیل-ال-کارنیتین، عملکردهای تنظیم نورونی و تغذیه نورونی را توسط افزایش سنتز فسفولیپیدهای مورد نیاز برای شکل‌گیری و یکپارچگی غشاء، اعمال می‌کند. استیل-ال-کارنیتین منبع بالقوه برای گروه‌های استیل است که برای سنتز استیل‌کولین در مغز پستانداران استفاده می‌شود (۳۲). به دلیل این‌که استیل-ال-کارنیتین، با فرآیندهای بیوانرژتیک، عمل متقابل دارد، نقش قابل‌توجهی در بیماری‌های وابسته به سازش متابولیک همچون بیماری‌های وابسته به میتوکندری، ایفاء می‌کند (۳۳). آسیب‌های میتوکندریایی القاء شده توسط عوامل اکسیدانی، سبب کاهش تصاعدی منابع انرژی سلولی (ATP)، زوال و نهایتاً مرگ سلولی می‌شود. لذا، اعتقاد بر این است که ال-کارنیتین نقش اصلی را در فرآیند پیری ایفاء می‌کند (۳۴). گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) سبب موتاسیون‌هایی در ژنوم میتوکندری (mtDNA) می‌شوند که سبب اختلالاتی در میتوکندری شده و همراه با آن، سبب کاهش انرژی زیستی سلولی می‌شود. این فرآیندها احتمالاً عامل کاهش عملکرد فیزیولوژیکی در سلول‌های پیر هستند و می‌توانند نقش مهمی در بیماری‌زایی بسیاری از بیماری‌های زوالی وابسته به سن ایفاء کنند (۳۵). ال–کارنیتین،

نقش فیزیولوژیکی مهمی در انتقال اسیدهای چرب از میان غشای داخلی میتوکندریایی برای بتا-اکسیداسیون آن‌ها و تولید ATP در بافت‌های محیطی ایفا می‌کند (۳۶).

با توجه به مطالعات گذشته مبنی بر اثرات استروژن بر به‌یادآوری حافظه و تداخل عمل آن با میتوکندری‌ها، خصوصاً در مناطق مغزی که اهمیت بیشتری دارد و همچنین اثرات ال-کارنیتین بر میزان تولید انرژی ATP و اثر بر عملکرد سیستم میتوکندریایی، استنباط می‌شود که ال–کارنیتین، احتمالاً اثرات خود بر به یادآوری حافظه را از طریق فعال شدن سیستم میتوکندریایی و سیستم تولید انرژی ATP اعمال نموده و با افزایش میزان ATP در نورون‌ها بر تقویت به یادآوری حافظه، نقش موثری ایفاء می‌نماید.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حوزه پژوهشی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی به دلیل حمایت مالی از تحقیق حاضر قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

1. Bahl, J. J., Bressler, R., 1987. The pharmacology of carnitine. Ann Rev Pharmacol Toxicol 27: 257-277.
2. Bieber, L. L., 1988. Carnitine. Annu Rev Biochem 57: 261-283.
3. Borum, P. R., 1983. Carnitine. Annu Rev Nutr 3: 233-259.
4. Hoppel, C. L., Davis, A. T., 1988. Inter-tissue relationships in the synthesis and distribution of carnitine. Biochem Soc Trans 14: 673-674.
5. Beal, M. F., 2003. Bioenergetic approaches for neuroprotection in Parkinson's disease. Ann Neurol 53: S39-S47.
6. Ebert, D., Haller, R. G., Walton, M. E., 2003. Energy contribution of octanoate to intact rat brain metabolism measured by 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy. J Neurosci 23: 5928-5935.
7. Nalecz, K. A., Nalecz, M. J., 1996. Carnitine: a known compound, a novel function in neural cells. Acta Neurobiol Exp (Wars.) 56: 597-609.
8. Shug, A. L., Schmidt, M. J., Golden, G. T., Fariello, R. G., 1982. The distribution and role of carnitine in the mammalian brain. Life Sci 31: 2869-2874.
9. Calabrese, V., Ravagna, A., Colombrita, C., 2005. Acetylcarnitine induces hemeoxygenase in rat astrocytes and protects against oxidative stress: Involvement of the transcription factor Nrf2. J Neurosci Res 79: 509-521.
10. Foreman, P. J., Perez-Polo, J. R., Angelucci, L., Ramacci, M. T., Taglialatela, G., 1995. Effects of acetyl-L-carnitine treatment and stress exposure on the nerve growth factor receptor [p75NGFR] mRNA level in the central nervous system of aged rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat 19: 117-133.
11. Furlong, J. H., 1996. Acetyl-L-carnitine: metabolism and applications in clinical practice. Altern Med Rev 1: 85-93.
12. Siegal, G. J., Albers, R. W., Brady, S. T., Price, D. L., 2006. Basic Neurochemistry Molecular, Cellular and Medical aspects. 7th Edition. Elsevier Academic Press. pp. 100-109.
13. Zola-Morgan, S., Squire, L. R., Amaral, D., 1986. Human amnesia and the medial temporal region: Enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to the CA_1 field of the hippocampus. J Neuroscience 6: 2950-2967.
14. Bliss, T. V., Collingridge, G. L., 1993. A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. Nature 361: 31-39.
15. Halbreich, U., Lumley, L. A., Palter, S., Manning, C., Gengo, F., Joe, S. H., 1995. Possible acceleration of age effects on cognition following menopause. J Psychiatr Res 29: 153-163.
16. Maki, P. M., Zonderman, A. B., Resnick, S. M., 2001. Enhanced verbal memory in no demented elderly women receiving hormone-replacement therapy. Am J Psychiatry 158: 227-233.
17. Tavani, A., La Vecchia, C., 1999. The adverse effects of hormone replacement therapy Drugs. Aging 14: 347-357.
18. Shughrue, P. J., Merchenthaler, I., 2000. Estrogen is more than just a "Sex Hormone": novel sites for estrogen action in the hippocampus and cerebral cortex. Front Neuroendocrinol 21: 95-101.

19. McEwen, B. S., Alves, S. E., 1999. Estrogen actions in the central nervous system. Endocr Rev 20: 279-307.
20. McEwen, B. S., 2001. Genome and hormones: gender differences in physiology invited review: Estrogen effects on the brain multiple sites and molecular mechanisms. J Appl Physiol 91: 2785-2801.
21. Lemasters, J. J., Qian, T., Bradham, C. A., Brenner, D. A., Cascio, W. E., Trost, L. C., Nishimura, Y., Nieminen, A. L., Herman, B., 1999. Mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of necrotic and apoptotic cell death. J Bioenerg Biomembranes 31: 305-319.
22. Kroemer, G., Reed, J. C., 2000. Mitochondrial control of cell death. Nat Med 6: 513-519.
23. Simpkins, J. W., Dykens, J. A., 2008. Mitochondrial mechanisms of estrogen neuroprotection. Brain Research Review S7: 421-435.
24. Betts, J., Lightowlers, R. N., Turnbull, D. M., 2004. Neuropathological aspects of mitochondrial DNA disease. Neurochem Res 29: 505-511.
25. Hawk, T., Zhang, Y. Q., Rajakumar, G., Day, A. L., Simpkins, J. W., 1998. Testosterone increases and estradiol decreases middle cerebral artery occlusion lesion size in male rats. Brain Res 796: 296-298.
26. Zheng, J., Ramirez, V. D., 1999. Purification and identification of an estrogen binding protein from rat brain: oligomycin sensitivity-conferring protein (OSCP), a subunit of mitochondrial F0F1-ATP synthase/ATPase. J Steroid Biochem Mol Biol 68: 65-75.
27. Yang, S. H., Liu, R., Perez, E. J., Wen, Y., Stevens J. S. M., Valencia, T., Brun-Zinkernagel, A. M., Prokai, L., Will, Y., Dykens, J., Koulen, P., Simpkins, J. W., 2004. Mitochondrial localization of estrogen receptor beta. Proc Natl Acad Sci USA 101: 4130-4135.
28. Rapp, P. R., Morrison, J. H., Roberts, J. A., 2003. Cyclic estrogen replacement improves cognitive function in aged ovariectomized rhesus monkeys. J Neurosci 23: 5708-5714.
29. Singh, M., Meyer, E. M., Millard, W. J., Simpkins, J. W., 1994. Ovarian steroid deprivation results in a reversible learning impairment and compromised cholinergic function in female Sprague Dawley rats. Brain Res 644: 305-312.
30. Rhodes, M. E., Frye, C. A., 2006. ER beta-selective SERMs produce mnemonic-enhancing effects in the inhibitory avoidance and water maze tasks. Neurobiol Learn Mem 85: 183-190.
31. Daniel, J. M., Huist, J. L., Berbling, J. L., 2006. Estradiol replacement enhances working memory in middle-aged rats when initiated immediately after ovariectomy but not after a long-term period of ovarian deprivation. Endocrinology 147: 607-614.
32. White, H. L., Scates, P. W., 1990. Acetyl-L-carnitine as a precursor of acetylcholine. Neurochem Res 15: 597-601.
33. Virmani, A., Binienda, Z., 2004. Role of carnitine esters in brain neuropathology. Mol Aspects Med 25: 533-549.
34. Harman, D., 2003. The free radical theory of aging. Antioxid Redox Signal 5: 557-561.
35. Miquel, J., 1998. An update on the oxygen stress-mitochondrial mutation theory of aging: genetic and evolutionary implications. Exp Gerontol 33: 113-126.
36. Mroczkowska, J. E., Gala, H. J., Nalecz, M. J., Nalecz, K. A., 1997. Evidence for an asymmetrical uptake of L-carnitine in the blood–brain barrier *in vitro*. Biochemistry and Biophysics Research Communication 241: 127-131.