



نموذج طلب دعم مشروع بحثي

رقم البحث: 155

عنوان البحث : **الدور الوقائي للكارنتين في الحماية من سرطان الكبد المحدث بواسطة النيتروزامين في الجرذان الطبيعية ومستنفذة الكارنتين**

الباحث الرئيس والقسم الذي ينتمي إليه : ا.د. عثمان بن عبدالله الشبانة - علم الادوية

الباحثون المشاركون والأقسام التي ينتمون إليها : د. محمد محمد سيد احمد - علم الادوية

الميزانية المقترحة: 40000

شهرًا

مدة البحث : 24

❖ مشكلة البحث :-

يعتبر سرطان الكبد من أكثر أنواع الأورام شيوعاً في العالم وخاصة في قارتي آسيا وإفريقيا وعلى الرغم من أن نسبة الإصابة بسرطان الكبد في المملكة العربية السعودية قليلة جداً إلا أن سرطان الكبد يعتبر رقم واحد في قائمة أربعة أنواع من الأورام الاكثر حدوثاً في الرجال. وعلى الرغم من التقدم العلمي ووجود طرق عديدة لعلاج هذا المرض إلا أن نتائج هذه الطرق غير مرضية حتى الآن. لذلك تبقى إستراتيجية منع حدوث هذا المرض أو الوقاية منه هي أفضل الطرق العلاجية. وفي السنوات الأخيرة بذلت مجهودات كبيرة جداً في البحث عن مواد طبيعية أو غذائية تستخدم كوسيلة لمنع حدوث أو الوقاية من سرطان الكبد.



الكارنتين هو أحد المركبات الطبيعية التي تصنع داخل جسم الإنسان كما أنه يستمد من بعض الأطعمة مثل منتجات الألبان واللحوم الحمراء ويعتبر الكبد العضو الرئيس المسؤول عن تصنيع الكارنتين. ويتركز مخزون الجسم من الكارنتين في عضلة القلب والعضلات الإرادية والكبد. وعلى الرغم من أن الكبد هو المسؤول عن تصنيع الكارنتين وتخزينه في الجسم إلا أن الدور الذي يمثله استنفاد أو نقص الكارنتين في الجسم أو إعطائه أثناء حدوث سرطان الكبد لم يتم دراسته.

أهداف البحث :-

تهدف هذه الدراسة الي معرفة ما إذا كان استنفاد أو نقص الكارنتين في الجسم يعد سبباً رئيسياً في حدوث سرطان الكبد وإذا كان كذلك هل إعطائه يلعب دور في الوقاية من سرطان الكبد. بالاضافة الي معرفة الآليات الوقائية المحتملة التي يستطيع من خلالها الكارنتين منع حدوث أو الوقاية من سرطان الكبد .

منهجية البحث :-



يتبع هذا البحث منهج إحداث نموذج مرضى في حيوانات التجارب وهو مرض إستنفاد الكارنتين في الجسم ويتم ذلك بواسطة حقن ذكور الجرذان في التجويف البريتوني بماده د-كارنيتين وعقب ذلك يتم إحداث سرطان الكبد في الجرذان الطبيعية ومستنفذة الكارنتين بواسطة حقن ماده النيتروزامين . ولتحقيق أهداف هذه الدراسة سوف يتم قياس المؤشرات التالية : نشاط إنزيمات الكبد و مستويات الكارنتين في الدم و الكبد و مستويات الطاقة (ATP) في الكبد و مستويات جلوتاثيون المختزل والمالونلدهيد وأكسيد النيتريك في الكبد و التغيرات النسيجية في الكبد.

التاريخ :

توقيع الباحث الرئيس :

ملاحظة: لا يقبل أي ملخص ما لم يقدم مطبوعاً باللغة العربية و موقعاً من الباحث الرئيس .



Please, fill this page if the research proposal is submitted in English.

Research Title:

**PREVENTIVE ROLE OF CARNITINE AGAINST
DIETHYLNITROSAMINE-INDUCED HEPATOCARCINOGENESIS IN
NORMAL AND CARNITINE-DEPLETED RAT MODELS.**

Research Problem:

Liver cancer is one of the common malignancies in the world, especially in Asia and Africa. Despite many available strategies for treatment of this disease, its long-term therapeutic outcome remains very poor. Therefore, prevention seems to be the best strategy in lowering the present prevalence of the disease. Much work has been performed for the prevention of liver cancer including monitoring of high risk populations, extensive immunization to prevent HBV infection and interferon to alleviate HCV infection, both providing hope of lowering or delaying the complication of hepatitis progression to liver cancer.

Research Significance: .

In the last few years, more and more efforts have been made in search for materials and food as a means of chemical prevention of liver cancer. L-carnitine is a naturally occurring compound that is primarily located in mitochondria and possesses potential protective effects against many mitochondrial toxic agents. It is derived from two sources; endogenous synthesis in liver and exogenous dietary sources from red meat and dairy products. Despite the liver is the main organ responsible for endogenous synthesis of l-carnitine, the role of endogenous depletion and/or supplementation of l-carnitine during induction of hepatocarcinogenesis are not studied yet.

Research Objectives:

The aim of this proposal is to investigate whether endogenous carnitine depletion and/or carnitine deficiency should be viewed as an additional risk factor during induction of hepatocarcinogenesis and to gain insights into the possibility of mechanism-based protection by L-carnitine against Diethylnitrosamine (DENA)-induced hepatocarcinogenesis.

Research Methodology:

To achieve the ultimate goal of this proposal, a total of 120 male Sprague-Dawley rats will be divided at random into 6 groups of 20 animals each. Group 1 will be daily I.P. injected with normal saline for 10 weeks, whereas rats in the second group will be I.P. injected with a single dose of DENA and carbon tetrachloride representing hepatic carcinogenesis. Rats in third and fourth group will be daily I.P. injected with L-carnitine (250 mg/kg) and D-carnitine (250 mg/kg) for 10 weeks, respectively. Animals in the fifth and sixth groups will be injected with a single dose of DENA and daily I.P. injection of L-carnitine (250 mg/kg) and D-carnitine (250 mg/kg) for 10 Weeks, respectively. At the end of the treatment protocol, animals will be sacrificed and the following parameters will be investigated: Liver function tests as an indices for hepatic carcinogenesis., Hepatic blood flow using Indocyanine Green method, Hepatic cytochrome p-450 activity using HPLC, Plasma and hepatic carnitine levels using HPLC, High energy nucleotide using HPLC, Oxidative stress parameters including malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) contents in Liver tissue homogenates and Histopathological changes in liver tissues.

Kingdom of Saudi Arabia

KING SAUD UNIVERSITY

Deanship of Scientific Research

..... ,Research Center



المملكة العربية السعودية

جامعة الملك سعود

عمادة البحث العلمي

مركز بحوث

مقترح مشروع بحثي

Research Project Proposal

Please, type either in English or Arabic

فضلاً، تتم الطباعة إما باللغة العربية أو الإنجليزية

التوقيع Signature	الكلية/القسم College/Department	الرتبة العلمية Academic Title	أسماء الباحثين* *Investigators Names
	علم الادوية	استاذ	1- د. عثمان بن عبد الله الشبانة
	علم الادوية	استاذ مساعد	2- د. محمد محمد سيد احمد
			3-

* الاسم الأول: الباحث الرئيس.

الاسم الثاني: الباحث المشارك الذي يرشحه الباحث الرئيس ليتولى القيام بالبحث في حال تغيب الباحث الرئيس أو تخليه عن البحث.

* First name indicates the Principal Investigator (PI).

Second name is the co-investigator designated by the PI to assume all responsibilities, in case of the absence of the PI.

Research Problem and Significance

Liver cancer is one of the common malignancies in the world, especially in Asia and Africa. Despite many available strategies for treatment of this disease, its long-term therapeutic outcome remains very poor. Therefore, prevention seems to be the best strategy in lowering the present prevalence of the disease. Much work has been performed for the prevention of liver cancer including monitoring of high risk populations, extensive immunization to prevent HBV infection and interferon to alleviate HCV infection, both providing hope of lowering or delaying the complication of hepatitis progression to liver cancer. In the last few years, more and more efforts have been made in search for materials and food as a means of chemical prevention of liver cancer. L-carnitine is a naturally occurring compound that is primarily located in mitochondria and possesses potential protective effects against many mitochondrial toxic agents. It is derived from two sources; endogenous synthesis in liver and exogenous dietary sources from red meat and dairy products. Despite the liver is the main organ responsible for endogenous synthesis of l-carnitine, the role of endogenous depletion and/or supplementation of l-carnitine during induction of hepatocarcinogenesis are not studied yet.

أهداف البحث

Research Objectives

The aim of this proposal is to investigate whether endogenous carnitine depletion and/or carnitine deficiency should be viewed as an additional risk factor during induction of hepatocarcinogenesis and to gain insights into the possibility of mechanism-based protection by L-carnitine against Diethylnitrosamine (DENa)- induced hepatocarcinogenesis.

Literature Review

Malignant diseases are becoming one of the major health problems in the world. Ultimately, a large sector of cancer patients seek medical attention in a relatively late stage which increases the cost of treatment. Liver cancer is one of the common malignancies in the world, especially in Asia and Africa (1). Despite many available strategies for treatment of this disease, its long-term therapeutic outcome remains very poor. Therefore, prevention seems to be the best strategy in lowering the present prevalence of the disease. Much work has been performed for the prevention of liver cancer including monitoring of high risk populations, extensive immunization to prevent HBV infection and interferon to alleviate HCV infection, both providing hope of lowering or delaying the complication of hepatitis progression to liver cancer (2,3).. In the last few years, more and more efforts have been made in search for materials and food as a means of chemical prevention of liver cancer (1, 4,5). In this regard, many substances has been tested and proved efficacy against experimentally-induced hepatocarcinogenesis (1, 4-6). L-carnitine is a naturally occurring compound that is primarily located in mitochondria and possesses potential protective effects against many mitochondrial toxic agents (7-9). It is derived from two sources; endogenous synthesis in liver and exogenous dietary sources from red meat and dairy products (10,11). Despite the liver is the main organ responsible for endogenous synthesis of l-carnitine, the role of endogenous depletion and/or supplementation of l-carnitine during induction of hepatocarcinogenesis are not studied yet. Therefore, this study will be initiated with the following specific aims: 1- to determine whether endogenous carnitine depletion and/or carnitine deficiency should be viewed as an additional risk factor during induction of hepatocarcinogenesis and; 2- to gain insights into the possibility of mechanism-based protection by L-carnitine against DENA-induced hepatocarcinogenesis.

Research Methodology

To achieve the ultimate goal of this proposal, a total of 120 male Sprague-Dawley rats will be divided at random into 6 groups of 20 animals each. Group 1 will be daily I.P. injected with normal saline for 10 weeks, whereas rats in the second group will be I.P. injected with a single dose of DENA and carbon tetrachloride representing hepatic carcinogenesis. Rats in third and fourth group will be daily I.P. injected with L-carnitine (250 mg/kg) and D-carnitine (250 mg/kg) for 10 weeks, respectively. Animals in the fifth and sixth groups will be injected with a single dose of DENA and daily I.P. injection of L-carnitine (250 mg/kg) and D-carnitine (250 mg/kg) for 10 Weeks, respectively. At the end of the treatment protocol, animals will be sacrificed and the following parameters will be investigated:

- (1) Liver function tests as an indices for hepatic carcinogenesis.
- (2) Hepatic blood flow using Indocyanine Green method.
- (3) Hepatic cytochrome p-450 activity using HPLC.
- (4) Plasma and hepatic carnitine levels using HPLC.
- (5) High energy nucleotide using HPLC.
- (6) Oxidative stress parameters including malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) contents in Liver tissue homogenates.
- (7) Histopathological changes in liver tissues.

References

- 1- Qian Y and Ling C: Preventive effect of ganfujian granule on experimental hepatocarcinoma in rats. *World J Gastroenterol.* 2004, 10: 755-757.
- 2- Lemoine A, Azoulay D, and Jezequel B: Hepatocellular carcinoma. *Pathol. Biol.* 1999; 47: 903-910.
- 3- Bbaffis V, Shrier I, Sherker AHAND Szilagy A: Use of interferon for prevention of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med* 1999; 131: 696-701.
- 4- Young KJ, and Lee PN: Intervention studies on cancer. *Eur J Cancer Prev* 1999; 8:91-103.
- 5- Singh JP, Selvendiran K, Banu SM, Padmavathi R and Sakthisekaran : Protective role of apigenin on the status of lipid peroxidation antioxidant defense against hepatocarcinogenesis in wistar albino rats. *Phytomedicine.* 2004; 11: 309-314.
- 6- Barbisan LF, Scolastici C, Miyamoto M et al: Effects of crude extracts of *agarcus blazei* on DNA damage and on rat liver carcinogenesis induced by diethylnitrosamine. *Genet Mol Res.* 2003; 2: 295-308.
- 7- Schuiz H: Beta oxidation of fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta.* 1991; 1081:109-120.
- 8- Negro CE, Ji LL, Schauer JE, Nagle FJ, Lardy HA: Carnitine supplementation and depletion: tissue carnitines and enzymes in fatty acid oxidation. *J. Appl. Physiol.* 1987; 63: 315-321.
- 9- Arrigoni-Martelli E, Caso V: Carnitine protects mitochondria and removes toxic acyls from xenobiotics. *Drugs Exp. Clin. Res.* 2001; 27: 27- 49.
- 10- Tanphaichitr V, Leelahagul P: Carnitine metabolism and human carnitine deficiency. *Nutrition.* 1993; 9: 246-254.
- 11- Carter AL, Abney TO, Lapp DF: Biosynthesis and metabolism of carnitine. *J. Child. Neurol.* 1995; 1: 2S3 - 2S7.

الميزانية التفصيلية
Detailed Budget

المبلغ المطلوب Funds in SR	التفاصيل Details	
	مقدار الجهد بالشهر Effort in months	أسماء الباحثين Names of Investigators
8400 = (7 شهر) x 1200		(1) د. عثمان بن عبدالله الشبانة
7000 = (7 شهر) x 1000		(2) د. محمد محمد سيد احمد
= (شهر) x 1000		(3)
= (شهر) x 1000		(4)
= (شهر) x 1000		(5)
15400	مجموع البند (1) (لا يزيد عن 40% من الميزانية الإجمالية Total(1) للبحث)	

Investigators (1)

(1) الباحثون

المبلغ المطلوب Funds in SR	مقدار الجهد بالشهر Effort in months	العدد Number
		(أ) مساعد باحث () ()
		(ب) فني مختبر () ()
		(ج) طالب جامعي () ()
		(د) إداريون () ()
		(هـ) مهارات أخرى () ()
	Total (2)	مجموع البند (2)

Assistants(2)

(2) مساعون

	(أ) الأجهزة والبرمجيات (a) Equipments & software	
12600	(ب) المواد Kits I-Aminoanthracen EDC Diethylnitrosamine Indocyanine Green Antipyrene D-carnitine L-carnitine	
12000	(ج) التجهيزات (c) Supplies HPLC Columns and accessories SAX-Isolute Cartridge	
24600	Total (3)	مجموع البنود (3)

(4)	Domestic travel	الرحلات الداخلية	(4)
(5)	Computer services	خدمات الحاسب الآلي	(5)
(6)	Other services	خدمات أخرى	(6)
40000	Grand Total	المجموع الكلي	

الخطة الزمنية للبحث

RESEARCH TIME SCHEDULE

starting Date : / / 142 H.

تاريخ بداية البحث: 142 هـ / /

البنء Items	التوالي المخطط للأعمال الرئيسية Planned sequence of major tasks	First Year السنة الأولى												Second Year السنة الثانية											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Purchasing materials and supplies	X	X	X																					
	Induction of Liver Cancer				X	X	X																		
	Experimental Work							X	X	X	X	X	X												
	Analysis of Data													X	X	X	X	X	X						
	Manuscript Presentation																		X	X	X	X	X	X	

إتفاقية ملزمة

Obligatory Agreement

The Principal Investigator (PI) should strictly adhere to and fulfill the following mandatory requirements concerning this research project:	يتقيد الباحث الرئيس بمتطلبات البحث التالية و يستوفيها بدقة:
1.The proposed research project has not been previously (or will not be) submitted, either fully or partially, to any other institution.	1. لم يقدم و لن يتم تقديم مقترح هذا البحث كلياً أو جزئياً إلى أيّ جهة بحثية أخرى.
2.The stated research project objectives will be achieved within the duration of research work.	2. يتم إنهاء أهداف مشروع البحث خلال مدة البحث.
3.The allocated budget and the stipulated period of the research project are planned accurately, taking all factors into consideration.	3. تم إعداد الميزانية و الخطة الزمنية للبحث بدقة ، و أخذت كافة الاعتبارات في الحسبان.
4.Progress report forms (one at the end of each semester) as well as questionnaires on the research assistant's activities (if any) will be submitted in due time.	4. يتم تسليم تقارير المتابعة و استطلاع الرأي عن مساعد الباحث (إن وجد) في موعدها مع نهاية كل فصل دراسي.
5.Scientific lectures, highlighting the results and conclusions derived, will have to be delivered. This will be arranged with the Research Center during the course of the research at suitable venue.	5. يتم تقديم محاضرات علمية بالتنسيق مع مركز البحوث، تلقي الضوء على النتائج و الخاتمة التي تم الوصول إليها.
6.The Research Center will be provided a copy of the research papers, related to the research project, published in scientific journals, conferences, etc.	6. يتم تزويد مركز البحوث بنسخة من الأوراق العلمية ذات العلاقة التي تم نشرها في المجلات و المؤتمرات العلمية... الخ.
7.A final comprehensive research report will be submitted by the end of the research project. This report will describe the objectives of the research, literature review and the relevant theoretical background. It will also show in detail the methodologies, techniques and experimental set-up used in conducting the research, as well as the results obtained and analysis carried out. It should include conclusions and recommendations, which might be useful for practical applications.	7. يتم تسليم تقرير نهائي شامل لمركز البحوث عند نهاية البحث. يوضح التقرير أهداف البحث و المسح المرجعي و الخلفية النظرية، كما يشمل منهجية مفصلة للبحث و أساليب و تجهيز التجارب المعملية المستخدمة في البحث، إلى جانب النتائج و تحليلها. وكذلك تضمن التوصيات و النتائج التي يتوقع أن تقيد في التطبيقات العملية.

Signature (PI): _____

Date : / /142 H