



نموذج طلب دعم مشروع بحثي

رقم البحث: 154

عنوان البحث : **تقييم التسمم الكلوي والقلبي المحدث بواسطة السييسبلاتين في الجرذان**

مستنفذة الكارنتين

الباحث الرئيس والقسم الذي ينتمي إليه : د. محمد محمد سيد احمد - علم الادوية

الباحثون المشاركون والأقسام التي ينتمون إليها : ا.د. عثمان بن عبدالله الشبانة - علم الادوية

الميزانية المقترحة: 40000

شهرًا

مدة البحث : 24

مشكلة البحث :-

يقع دواء السييسبلاتين ضمن أدوية الأورام شائعة الإستخدام في علاج العديد من الأورام الصلبة ، ولكن مما يحد من إستخدامه الأمثل بالجرعات العلاجية القصوى هو تأثيره السام على كل من عضلة القلب والكلى. ومن المعروف أن دواء السييسبلاتين يسبب خلل كبير في وظائف الكلى، الأمر الذي يسبب زياده إخراج وفقد بعض المواد الضرورية والتي يحتاجها الجسم مثل الكارنتين في البول، الأمر الذي قد يحدث نقص أو إستنفاذ مخزون الكارنتين في الجسم.

أهمية البحث :-

الكارنتين فهو أحد المركبات الطبيعية التي تصنع داخل الجسم في الكبد والكلى. ويلعب الكارنتين دور هام جداً في أكسده الأحماض الدهنية طويله السلسله والتي تعتبر المصدر الأساسي لإنتاج الطاقة اللازمه لعمل عضلة القلب والكبد والكلى. وقد أثبتت دراسة حديثه أن الكارنتين ممكن أن يمنع التسمم الكلوي والمعوي المحدث بواسطة السييسبلاتين. ولكن الوقاية التي قدمها الكارنتين في تلك الدراسه لم تكن كاملة كما أن آلياتها غير معروفه. علاوه على ذلك فإن تأثير السييسبلاتين على وظائف الكلى والقلب أثناء حدوث نقص أو إستنفاذ الكارنتين في الجسم لم تدرس حتى الآن.

أهداف البحث :-

تهدف هذه الدراسة إلى:

- 1- معرفه ما إذا كان استنفاد أو نقص الكارنتين في الجسم يعد سبباً للتسمم الكلوي المحدث بواسطة السييسبلاتين ومدى تأثير ذلك النقص في وظائف القلب والكبد.
- 2- معرفة الآليات المحتمله التي يستطيع من خلالها البروبيونيل كارنتين الوقايه ضد التسمم الكلوى والقلبي الناتج عن السييسبلاتين.
- 3- دراسة تأثير كل من د-كانتين والبروبيونيل كارنتين على فاعلية دواء السييسبلاتين كمضاد للسرطان.

منهجية البحث :-

ويتبع هذا البحث منهج إحداث نموذج مرضى في حيوانات التجارب وهو مرض إستنفاد الكارنتين في الجسم ويتم ذلك بواسطة حقن ذكور الجرذان في التجوييف البريتوني بماده د-كارنيتين بجرعه مقدارها (500 مج/كجم) لمدة عشرة أيام متتالية وعقب ذلك يتم حقن دواء السييسبلاتين بجرعه واحده مقدارها (7 مج/كجم). ولتحقيق أهداف هذه الدراسة سوف يتم قياس المؤشرات التالية :-

مستويات الكرياتينين واليوريا في الدم كدلائل للتسمم الكلوى

نشاط إنزيمات القلب والكبد

مستويات الكارنتين في الدم والأعضاء المختلفة

مستويات الطاقة (ATP) في الأعضاء المختلفة

مستويات جلوتاثيون المختزل والمالونلدهيد وأكسيد النيتريك في الأعضاء المختلفة

دراسة تأثير البروبيونيل كارنتين أو د-كارنتين في كفاءه السييسبلاتين لوقف النمو

السرطاني بقياس النقص في حجم ورم الإريخ الصلب.

التاريخ :

توقيع الباحث الرئيس :

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

Kingdom of Saudi Arabia

KING SAUD UNIVERSITY

Deanship of Scientific Research

....., Research Center



المملكة العربية السعودية

جامعة الملك سعود

عمادة البحث العلمي

مركز بحوث 000000000

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

Research Title: EVALUATION OF CISPLATIN-INDUCED CARDIAC AND RENAL DYSFUNCTION IN CARNITINE-DEPLETED RAT MODEL.

Research Problem:

Cisplatin is an inorganic platinum compound with a broad-spectrum antineoplastic activity against different types of human tumours. Nevertheless, both clinical and experimental studies report a dose-limiting nephrotoxicity, which restricts cisplatin's optimal usefulness in cancer chemotherapy. Although several mechanisms have been suggested to account for cisplatin-induced nephrotoxicity, the precise mechanisms underlining this pathogenesis are not yet completely understood. Cisplatin is a well-known renal tubular toxin, leading to increased excretion of a number of substances including amino acids, glucose, phosphate, sodium, magnesium and L-carnitine.

Research Significance:

L-carnitine is a natural compound that is derived from two sources; endogenous synthesis mainly in kidney and liver and exogenous dietary sources from red meat and dairy products. Under normal physiological conditions, L-carnitine is highly conserved since 90% of the filtered L-carnitine is reabsorbed at the proximal tubular level. Recent study have demonstrated that oxidative injury of the kidney tissues induced by cisplatin is successfully inhibited by carnitine without decreasing the tumouricidal action of the agent. However, the protection achieved by L-carnitine was not complete and its mode of action was unclear. Moreover, the effects of cisplatin on cardiac and kidney functions under condition of carnitine depletion are not studied yet.

Research Objectives:

The aim of this proposal is to investigate whether carnitine deficiency and/or endogenous depletion should be viewed as an additional risk factor in cisplatin-induced nephrotoxicity, and if so, what are the consequences of this condition on cardiac and hepatic functions. To determine whether Propionyl-L-carnitine would offer a significant protection against cisplatin-induced organ toxicity and to gain insights into the possibility of mechanism-based protection by propionyl-L-carnitine against the side effects of cisplatin.

Research Methodology:

To achieve the ultimate goal of this proposal, a total of 60 male Sprague-Dawley rats will be used and divided at random into 6 groups of 10 animals each. The first three groups will be injected with normal saline (0.5 ml/200 gm body weight, I.P.), propionyl-L-carnitine (500 mg/kg, I.P.), and D-carnitine (500 mg/kg, I.P.) respectively, for 10 successive days. The 4th, 5th, and 6th groups will be injected with the same doses of normal saline, propionyl-L-carnitine and D-carnitine, respectively for 5 successive days before and after a single dose of cisplatin (7 mg/kg, I.P.). Six days after cisplatin administration, animals will be anesthetized with ether, and blood samples will be obtained by heart puncture. Serum and organs will be separated for measurement of the following parameters.

- 1- Nephrotoxicity indices (blood urea nitrogen and serum creatinine).
- 2- Cardiotoxicity indices (serum lactate dehydrogenase and CK-MB).
- 3- Hepatotoxicity indices (ALT and AST)
- 4- Plasma carnitine level using HPLC.
- 5- Total carnitine level in kidney, heart and liver tissues using HPLC.
- 6- High energy nucleotide in kidney, heart and liver tissues using HPLC.
- 7- Markers of oxidative damage and lipid peroxidation including malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) contents in kidney, heart and liver tissue homogenates.
- 8- Histopathological changes in kidney, heart and liver tissues.



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 مساعد	1- د. محمد محمد سيد احمد
	علم الادوية	استاذ	2- ا.د. عثمان بن عبدالله الشبانة

* 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

Cisplatin is an inorganic platinum compound with a broad-spectrum antineoplastic activity against different types of human tumours. Nevertheless, both clinical and experimental studies report a dose-limiting nephrotoxicity, which restricts cisplatin's optimal usefulness in cancer chemotherapy. Although several mechanisms have been suggested to account for cisplatin-induced nephrotoxicity, the precise mechanisms underlining this pathogenesis are not yet completely understood. Cisplatin is a well-known renal tubular toxin, leading to increased excretion of a number of substances including L-carnitine, amino acids, glucose, phosphate, sodium, and magnesium.

L-carnitine is a natural compound that is derived from two sources; endogenous synthesis mainly in kidney and liver and exogenous dietary sources from red meat and dairy products. Under normal physiological conditions, L-carnitine is highly conserved since 90% of the filtered L-carnitine is reabsorbed at the proximal tubular level. Recent study have demonstrated that oxidative injury of the kidney tissues induced by cisplatin is successfully inhibited by carnitine without decreasing the tumouricidal action of the agent. However, the protection achieved by L-carnitine was not complete and its mode of action was unclear. Moreover, the effects of cisplatin on cardiac and kidney functions under condition of carnitine depletion are not studied yet.

أهداف البحث

Research Objectives

The aim of this proposal is to investigate whether carnitine deficiency and/or endogenous depletion should be viewed as an additional risk factor in cisplatin-induced nephrotoxicity, and if so, what are the consequences of this condition on cardiac and hepatic functions. To determine whether Propionyl-L-carnitine would offer a significant protection against cisplatin-induced organ toxicity and to gain insights into the possibility of mechanism-based protection by propionyl-L-carnitine against the side effects of cisplatin.

Literature Review

Cisplatin is an inorganic platinum compound with a broad-spectrum antineoplastic activity against different types of human tumours [1]. Nevertheless, both clinical and experimental studies report a dose-limiting nephrotoxicity, which restricts cisplatin's optimal usefulness in cancer chemotherapy [2,3]. Although several mechanisms have been suggested to account for cisplatin-induced nephrotoxicity, the precise mechanisms underlining this pathogenesis are not yet completely understood. It has been reported that cisplatin elicited oxidative stress in and around mitochondria, thereby inducing apoptosis of renal proximal tubule cells and dysfunction of the kidney [4,5]. The mechanisms for this toxic effect may involve direct inhibition of specific membrane transport systems, mitochondrial toxicity and depletion of glutathione, finally leading to loss of specific functions and/or necrosis of renal tubular cells [6,7]. Propionyl-lcarnitine (PLC) is a natural short chain derivative of l-carnitine that is primarily located in mitochondria and possesses potential protective effects against mitochondrial toxic agents [8,9]. Under normal physiological conditions, L-carnitine is highly conserved since 90% of the filtered L-carnitine is reabsorbed at the proximal tubular level [10]. Accordingly, carnitine deficiency could be easily reached following impaired reabsorption or reduced endogenous synthesis of carnitine. Recently, Chang et al. have demonstrated that oxidative injury of the kidney tissues induced by cisplatin is successfully inhibited by carnitine without decreasing the tumouricidal action of the agent [5]. However, the protection achieved by L-carnitine was not complete and its mode of action was unclear. Moreover, the effect of cisplatin on cardiac and kidney function under condition of carnitine depletion is not studied yet. Therefore, the aim of this proposal is to investigate whether carnitine deficiency and/or endogenous depletion should be viewed as an additional risk factor in cisplatin-induced nephrotoxicity, and if so, what are the consequences of this condition on cardiac and hepatic function.

Research Methodology

In this proposal, carnitine deficiency will be produced by chronic intraperitoneal injection of D-carnitine, the inactive isomer. Depletion of l-carnitine by D-carnitine occurs via an exchange of the D-and L-isomers across the cell membrane where the intracellular L-carnitine was shown to exchange with the extracellular D-carnitine. Moreover, D-carnitine possesses an inhibitory effect upon carnitine transferase enzymes. To achieve the ultimate goal of this proposal, a total of 60 male Sprague-Dawley rats will be used and divided at random into 6 groups of 10 animals each. The first three groups will be injected with normal saline (0.5 ml/200 gm body weight, I.P.), propionyl-l-carnitine (500 mg/kg, I.P.), and D-carnitine (500 mg/kg, I.P.) respectively, for 10 successive days. The 4th, 5th, and 6th groups will be injected with the same doses of normal saline, propionyl-l-carnitine and D-carnitine, respectively for 5 successive days before and after a single dose of cisplatin (7 mg/kg, I.P.). Six days after cisplatin administration, animals will be anesthetized with ether, and blood samples will be obtained by heart puncture. Serum and organs will be separated for measurement of the following parameters.

- 1- Nephrotoxicity indices (blood urea nitrogen and serum creatinine).
- 2- Cardiotoxicity indices (serum lactate dehydrogenase and CK-MB).
- 3- Hepatotoxicity indices (ALT and AST)
- 4- Plasma carnitine level using HPLC.
- 5- Total carnitine level in kidney, heart and liver tissues using HPLC.
- 6- High energy nucleotide in kidney, heart and liver tissues using HPLC.
- 7- Markers of oxidative damage and lipid peroxidation including malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) contents in kidney, heart and liver tissue homogenates.
- 8- Histopathological changes in kidney, heart and liver tissues.

References

- 1- Loehrer PJ, Einhorn, LH: Cisplatin. *Ann. Intern. Med.* 1984; 100: 704-713.
- 2- Lieberthal W, Triaca V, Levine J: Mechanisms of death induced by cisplatin in proximal tubular epithelial cells: apoptosis vs necrosis. *Am.J. Physiol.* 1996;240: F700-F708.
- 3- Kintzel PE: Anticancer drug-induced kidney disorders. *Drug. Saf.* 2001; 24:19-38.
- 4- Kuhlmann MK, Burkhardt G, Kohler H: Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997; 12: 2478-2480.
- 5- Chang B, Nishikawa M, Sato E, Utsumi K, Inoue M: L-carnitine inhibits cisplatin-induced injury of the kidney and small intestine. *Arch. Biochem. Biophys.* 2002; 405: 55- 64.
- 6- Antunes LM, Darin JD, Bianchi MD: Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol. Res.* 2001; 43: 145-150.
- 7- Saad SY, Al-Rikabi AC: Protection effects of taurine supplementation against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Chemotherapy.* 2002; 48: 42-48.
- 8- Schuiz H: Beta oxidation of fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta.* 1991; 1081:109-120.
- 9- Arrigoni-Martelli E, Caso V: Carnitine protects mitochondria and removes toxic acyls from xenobiotics. *Drugs Exp. Clin. Res.* 2001; 27: 27- 49.
- 10- Bremer J: The Role of carnitine in cell metabolism. In: *Carnitine Today.* (De Simone, C. and Famularo, G. eds.). Landes Bioscience, Austin, Texas, U.S.A., pp. 1997; 1-37.

الميزانية التفصيلية
Detailed Budget

المبلغ المطلوب Funds in SR	التفاصيل Details	
	مقدار الجهد بالشهر Effort in months	أسماء الباحثين Names of Investigators
6000 = (5 شهر) x 1200		(1) د. محمد محمد سيد احمد
6000 = (6 شهر) x 1000		(2) ا.د. عثمان بن عبدالله الشبانة
= (شهر) x 1000		(3)
= (شهر) x 1000		(4)
= (شهر) x 1000		(5)
12000	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) مساعدون

4000	(أ) الأجهزة والبرمجيات (a) Equipments & software Full Computer Unit with all Accessories
10000	(ب) المواد (b) Materials Kits 1-Aminoanthracen EDC D-carnitine Propionyl-l-carnitine
14000	(ج) التجهيزات (c) Supplies HPLC Columns and accessories SAX-Isolute Cartridge
28000	مجموع البند (3) Total (3)

	الرحلات الداخلية Domestic travel
--	-------------------------------------

	خدمات الحاسب الآلي Computer services
--	---

	خدمات أخرى Other services
--	------------------------------

40000	المجموع الكلي Grand Total
--------------	------------------------------

الخطة الزمنية للبحث

RESEARCH TIME SCHEDULE

starting Date : / / 142 H.

تاريخ بداية البحث: 142 هـ / /

البند Items	التوالي المخطط للأعمال الرئيسية Planned sequence of major tasks	السنة الأولى First Year												السنة الثانية Second Year											
		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 Disease Model				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:	يتفقيد الباحث الرئيس بمتطلبات البحث التالية و يستوفيهها بدقة:
1.The proposed research project has not been previously (or will not be) submitted, either fully or partially, to any other institution.	. لم يقدم و لن يتم تقديم مقترح هذا البحث كلياً أو جزئياً إلى أي 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.	. 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 بحث. 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 تفيد في التطبيقات العملية.

Signature (PI): : _____ / /1425