



نموذج طلب دعم مشروع بحثي

رقم البحث: 207

عنوان البحث : تقييم إعتلال الذاكرة المحدث بواسطة الإقفار الدموي لمقدمة الدماغ في الجرذان

الطبيعية ومستنفذة 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 - د. عبد العزيز محمد العيسى - علم الادوية

الميزانية المقترحة : 50.000

شهرًا

مدة البحث : 24

مشكلة البحث :-

يعتبر عطب الأنسجة الدماغية الناتج من الإقفار الدموي لمقدمة الدماغ سببا رئيسيا في اعتلال الذاكرة وعدم القدرة على الحركة. وقد أثبتت الدراسات أن الإصابة الدماغية التي تحدث أثناء التوقف المؤقت للدورة الدموية والتنفسية تؤدي إلى مشاكل عديدة في التركيز والذاكرة وشلل الأطراف وكذلك تؤدي إلى موت الخلايا العصبية في قرن امون، الأمر الذي يؤدي في النهاية إلى حدوث الوفاة. ومن المعروف أن الإقفار الدموي لمقدمة الدماغ يسبب خلل كبير في وظائف المخ، الأمر الذي قد يتسبب في وقف تخليق أو فقدان بعض المواد الضرورية والتي يحتاجها الجسم مثل الكارنتين، الأمر الذي قد يحدث نقص أو إستنفاد مخزون الكارنتين في المخ.

أهمية البحث :-

الكارنتين هو أحد المركبات الطبيعية التي تصنع داخل جسم الإنسان في الكبد والكلى والمخ. ويلعب الكارنتين دور هام جداً في أكسده الأحماض الدهنية طويلة السلسلة والتي تعتبر المصدر الأساسي لإنتاج الطاقة اللازمة لعمل عضلة القلب والكبد والكلى والخلايا العصبية. وقد أثبتت دراسة وحيدة و حديثه في معاملنا أن البروبيونيل "ل"كارنتين ممكن أن يمنع العطب الناتج عن الإجهاد التأكسدي و نفاذ الطاقة في قرن أمون المستحث بالإقفار الدموي لمقدمة الدماغ في الجرذان. ولكن الوقاية التي قدمها البروبيونيل "ل"كارنتين في تلك الدراسة لم تكن كاملة كما أن آلياتها غير معروفه. علاوة على ذلك فإن تأثير الإقفار الدموي لمقدمة الدماغ على اختبار التركيز والتعلم أثناء حدوث نقص أو إستنفاد 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 في إعتلال الذاكرة المحدث بواسطة الإقفار الدموي لمقدمة الدماغ في الجرذان.
- 2- معرفة الآليات المحتمله التي يستطيع من خلالها البروبيونيل "ل"كارنتين الوقايه من إعتلال الذاكرة المحدث بواسطة الإقفار الدموي لمقدمة الدماغ في الجرذان.

منهجية البحث :-

يتبع هذا البحث منهج إحداث نموذج مرضى في حيوانات التجارب وهو مرض إستنفاد الكارنتين في الجسم ويتم ذلك بواسطة إعطاء ذكور الجرذان عن طريق الفم مادتي د-كارنيتين و الملدرونات بجرعه مقدارها (200 مج/كجم) لمدة عشرة أيام متتالية وبعد ذلك يتم إحداث إعتلال في الذاكرة بواسطة الإقفار الدموي لمقدمة الدماغ لمدة 10 دقائق في الجرذان. ولتحقيق أهداف هذه الدراسه سوف يتم قياس المؤشرات التالية :-

مستويات الكارنتين في الدم .

مستويات الكارنتين في قرن أمون دماغ الجرذ.

مستويات الطاقة (ATP) في قرن أمون دماغ الجرذ.

إختبار التركيز و التعلم باستخدام الدهليز المائى.

نشاط بروتينات الكالسينيورين و الايكام في قرن أمون دماغ الجرذ.

مستويات الأنزيمات المضاده للشوارد الجامحة.

مستويات جلوتاثيون و المالونلدهيد و أكسيد النيتريك في قرن أمون دماغ الجرذ.

التغيرات النسيجية في قرن أمون دماغ الجرذ.

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 Forebrain Ischemia-Induced Memory Impairment in Normal and Carnitine Depleted Rat Model

Research Problem:

Damage to brain tissue resulting from forebrain ischemia is a major cause of adult disability and memory impairment. It can lead to cognition problems, seizures, and death [1,2]. Transient global cerebral ischemia (forebrain ischemia), occurring during cardiorespiratory arrest in patients or in experimental animals, induces selective and delayed neuronal cell death. Pyramidal neurons in the CA1 region of the hippocampus are particularly vulnerable and die after global ischemia [2-5]. Hippocampal CA1 sector injury is observed 3 to 7 days after untreated forebrain ischemia in the rat, gerbil, and human[2,6]. Although several mechanisms have been suggested to account for forebrain ischemia-induced memory impairment, the precise mechanisms underlining this pathogenesis are not yet completely understood. Recent study in our laboratory have reported that carnitine esters have considerable protective effect against forebrain ischemia-induced oxidative stree damage and energy starvation in rat hippocampus tissues [7].

Research Significance:

L-carnitine is a natural compound that is derived from two sources; endogenous synthesis mainly in kidney, brain and liver and exogenous dietary sources from red meat and dairy products [8-10]. Recent study in our laboratory have reported that carnitine esters have considerable protective effect against forebrain ischemia-induced oxidative stress and energy starvation in rat hippocampus tissues [7].However, the effects of forebrain ischemia-induced memory impairment under condition of carnitine depletion and the role of carnitine in Gentamicin-induced organs toxicity are not studied to date.

Research Objectives:

The aim of this proposal is to investigate whether carnitine deficiency and/or endogenous carnitine depletion is an additional risk factor and should be viewed as a mechanism in Forebrain ischaemia-induced hippocampal damage, and if so, what are the consequences of this condition on memory status ?. To determine whether carnitine supplementation, using PLC, would offer a significant protection against Forebrain ischaemia-induced memory impairment and to gain insights into the possibility of mechanism-based protection by PLC against neuronal damage induced by forebrain ischemia.

Research Methodology:

In this proposal, carnitine deficiency will be produced by combined administration of D-carnitine (the inactive isomer) and Mildronate (γ -butyrobetaine hydroxylase inhibitor) [11]. 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, whereas, Mildronate blocks the synthesis of L-carnitine in liver and kidney. To achieve the ultimate goal of this proposal, a total of 105 male wistar albino rats will be used and divided at random into 7 groups of 15 animals each. The first three groups will be injected with normal saline (0.5 ml/200 g/day, I.P.), D-carnitine (300 mg/kg/day, I.P.) and PLC (300 mg/kg/day, I.P.), respectively, for 7 successive days. The 4th, 5th and 6th groups will be injected with the same doses of normal saline, D-carnitine and PLC, respectively, immediately after induction of 10 min forebrain ischemia and continued for 7 successive days. Rats in the 7th group will be subjected to sham-operated ischemia and injected with normal saline for 7 successive days. At the end of the treatment protocol, following parameters will be measured.

1. Plasma carnitine level using HPLC.
2. Total carnitine level in rat hippocampal tissues using HPLC.
3. High energy nucleotide in rat hippocampal tissues using HPLC.
4. Learning and memory performance using Radial Arm Water Maze (RAWM).
5. Activity of p-CaMKII and Calcineurin in rat hippocampal tissues.
6. Markers of oxidative damage and lipid peroxidation including malondialdehyde, glutathione and nitric oxide contents in hippocampal tissues.
7. Histopathological changes in hippocampal 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
	علم الادوية	أستاذ مساعد	3- د. عبد العزيز محمد العيسى

* 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

Research Problem:

Damage to brain tissue resulting from forebrain ischemia is a major cause of adult disability and memory impairment. It can lead to cognition problems, seizures, and death [1,2]. Transient global cerebral ischemia (forebrain ischemia), occurring during cardiorespiratory arrest in patients or in experimental animals, induces selective and delayed neuronal cell death. Pyramidal neurons in the CA1 region of the hippocampus are particularly vulnerable and die after global ischemia [2-5]. Hippocampal CA1 sector injury is observed 3 to 7 days after untreated forebrain ischemia in the rat, gerbil, and human[2,6]. Although several mechanisms have been suggested to account for forebrain ischemia-induced memory impairment, the precise mechanisms underlining this pathogenesis are not yet completely understood. Recent study in our laboratory have reported that carnitine esters have considerable protective effect against forebrain ischemia-induced oxidative stress damage and energy starvation in rat hippocampus tissues [7].

Research Significance:

L-carnitine is a natural compound that is derived from two sources; endogenous synthesis in kidney liver and brain and exogenous dietary sources from red meat and dairy products [8-10]. Recent study in our laboratory have reported that carnitine esters have considerable protective effect against forebrain ischemia-induced oxidative stress and energy starvation in rat hippocampus tissues [7]. However, the effects of forebrain ischemia-induced memory impairment under condition of carnitine depletion and the role of carnitine in forebrain ischemia-induced memory impairment are not studied to date.

أهداف البحث

Research Objectives

The aim of this proposal is to investigate whether carnitine deficiency and/or endogenous carnitine depletion is an additional risk factor and should be viewed as a mechanism in Forebrain ischaemia-induced hippocampal damage, and if so, what are the consequences of this condition on memory status ?. To determine whether carnitine supplementation, using PLC, would offer a significant protection against Forebrain ischaemia-induced memory impairment and to gain insights into the possibility of mechanism-based protection by PLC against neuronal damage induced by forebrain ischemia.

Literature Review

Damage to brain tissue resulting from forebrain ischemia is a major cause of adult disability and memory impairment. It can lead to cognition problems, seizures, and death [1,2]. Transient global cerebral ischemia (forebrain ischemia), occurring during cardiorespiratory arrest in patients or in experimental animals, induces selective and delayed neuronal cell death. Pyramidal neurons in the CA1 region of the hippocampus are particularly vulnerable and die after global ischemia [2-5]. Hippocampal CA1 sector injury is observed 3 to 7 days after untreated forebrain ischemia in the rat, gerbil, and human[2,6]. Although several mechanisms have been suggested to account for forebrain ischemia-induced memory impairment, the precise mechanisms underlining this pathogenesis are not yet completely understood. Recent study in our laboratory have reported that carnitine esters have considerable protective effect against forebrain ischemia-induced oxidative stress damage and energy starvation in rat hippocampus tissues [7]. L-carnitine is a natural compound that is derived from two sources; endogenous synthesis in kidney liver and brain and exogenous dietary sources from red meat and dairy products [8-10]. Recent study in our laboratory have reported that carnitine esters have considerable protective effect against forebrain ischemia-induced oxidative stress and energy starvation in rat hippocampus tissues [7]. However, the effects of forebrain ischemia-induced memory impairment under condition of carnitine depletion and the role of carnitine in forebrain ischemia-induced memory impairment are not studied to date.

Research Methodology

In this proposal, carnitine deficiency will be produced by combined administration of D-carnitine (the inactive isomer) and Mildronate (γ -butyrobetaine hydroxylase inhibitor) [11]. 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, whereas, Mildronate blocks the synthesis of L-carnitine in liver and kidney. To achieve the ultimate goal of this proposal, a total of 105 male wistar albino rats will be used and divided at random into 7 groups of 15 animals each. The first three groups will injected with normal saline (0.5 ml/200 g/day, I.P.), D-carnitine (300 mg/kg/day, I.P.) and PLC (300 mg/kg/day, I.P.), respectively, for 7 successive days. The 4th, 5th and 6th groups will injected with the same doses of normal saline, D-carnitine and PLC, respectively, immediately after induction of 10 min forebrain ischemia and continued for 7 successive days. Rats in the 7th group will subjected to sham-operated ischemia and injected with normal saline for 7 successive days. At the end of the treatment protocol, animals will be anesthetized with ether, and blood samples will be obtained by heart puncture. Serum and brains will be separated for measurement of the following parameters.

1. Plasma carnitine level using HPLC.
2. Total carnitine level in rat hippocampal tissues using HPLC.
3. High energy nucleotide in rat hippocampal tissues using HPLC.
4. Learning and memory performance using Radial Arm Water Maze (RAWM).
5. Activity of p-CaMKII and Calcineurin in rat hippocampal tissues.
6. Markers of oxidative damage and lipid peroxidation including malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) contents in hippocampal tissues.
7. Histopathological changes in hippocampal tissues.

References

1. Levy DE, Caronna JJ, Singer BH, Lapinski RH, Frydman H, Plum F. Predicting outcome from hypoxic-ischemic coma. *JAMA*. 1985; 253: 1420- 1426.
2. Petito CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F. Delayed hippocampal damage in Humans following cardiorespiratory arrest. *Neurology*. 1987; 37:1281-1286.
3. Kirino T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain. Res.* 1982; 239: 57-69.
4. Pulsinelli WA, Brierley JB, Plum F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. *Ann. Neurol.* 1982; 11: 491-498.
5. Kirino T. Delayed neuronal death. *Neuropathology*. 2000; 20 (Suppl): S95.
6. Colbourne F, Li H, Buchan AM. Continuing postischemic neuronal death in CA1: influence of ischemia duration, and cytoprotective doses of NBQX and SNX-111. *Stroke*. 1999; 30: 662–668.
7. Al-Majed AA, Sayed-Ahmed MM, Al-Omar FA, Al-Yahya AA, Aleisa AM and Al-Shabanah OA. Carnitine esters prevent oxidative stress damage and energy depletion following transient forebrain ischaemia in the rat hippocampus. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2006; 33: 725–733
- 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.
11. Sayed-Ahmed MM, Eissa MA, Kenawy S, Mostafa N, Calvani M, OsmanAM. Progression of cisplatin-induced nephrotoxicity in a carnitine depleted rat model. *Chemotherapy* 2004; 50: 162-170.

الميزانية التفصيلية
Detailed Budget

المبلغ المطلوب Funds in SR	التفاصيل Details	
	مقدار الجهد بالشهر Effort in months	أسماء الباحثين Names of Investigators
8000 = (8 شهر) x 1000		(1) د. محمد محمد سيد احمد
6000 = (6 شهر) x 1000		(2) ا.د. عثمان بن عبدالله الشبانة
6000 = (6 شهر) x 1000		(3) د. عبد العزيز محمد العيسى
= (شهر) x 1000		(4)
= (شهر) x 1000		(5)
20000	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

14000	(أ) الأجهزة والبرمجيات (a) Equipments & software 1- Omni Homogenizer 2- Laptop Computer
8000	(ب) المواد (b) Materials Kits 1-Aminoanthracen EDC D-carnitine Propionyl-l-carnitine
8000	(ج) التجهيزات (c) Supplies 1- HPLC Columns and accessories 2- SAX-Isolute Cartridge
30000	Total (3) مجموع البند (3)

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

	Computer services خدمات الحاسب الآلي
--	---

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

50000	Grand Total المجموع الكلي
--------------	------------------------------

الخطة الزمنية للبحث

RESEARCH TIME SCHEDULE

starting Date : / / 142 H.

تاريخ بداية البحث: 142 هـ / /

البند Items	التوالي المخطط للأعمال الرئيسة 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