



نموذج طلب دعم مشروع بحثي

رقم البحث: 171

عنوان البحث : تقييم التسمم الكلوي و الكبدي المحدث بعقار الجنتاميسين في الجرذان مستنفذة

الكارنتين بواسطة د-كارنيتين و مثبت إنزيم جاما بتيروببتاين هيدروكسيلاز

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

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

الميزانية المقترحة : 60000

شهرًا

مدة البحث : 24

مشكلة البحث :-

يقع دواء الجنتاميسين ضمن مجموعة المضادات الحيوية شائعة الاستخدام في علاج العديد من الأمراض الخطيرة ، ولكن مما يحد من استخدامه الأمثل بالجرعات العلاجية القصوى هو تأثيره السام على الكلى والذي يسبب 20 % من حالات الفشل الكلوي الحاد ، الأمر الذي يؤدي إلي زيادة كل من الوفيات وتكلفة الرعاية الطبية. وعلي الرغم من أن تغيير نظام إعطاء الجنتاميسين من جرعات متعددة يومية إلي جرعة واحدة يومية قد قلل سمية الجنتاميسين على الكلى ، إلا أن معدل الفشل الكلوي الحاد الذي يسببه الجنتاميسين لا يزال عاليًا. ومن المعروف أن دواء الجنتاميسين يسبب خلل كبير في وظائف الكلى، الأمر الذي قد يتسبب في زيادة إخراج وفقدان بعض المواد الضرورية والتي يحتاجها الجسم مثل الكارنتين في البول، الأمر الذي قد يحدث نقص أو إستنفاد مخزون الكارنتين في الجسم.

أهمية البحث :-

الكارنتين هو أحد المركبات الطبيعية التي تصنع داخل جسم الإنسان في الكبد والكلى. ويلعب الكارنتين دور هام جداً في أكسده الأحماض الدهنية طويلة السلسله والتي تعتبر المصدر الأساسي لإنتاج الطاقة اللازمه لعمل عضلة القلب والكبد والكلى. وقد أثبتت دراسة وحيدة و حديثه أن الكارنتين ممكن أن يمنع التسمم الكلوي المحدث بواسطة الجنتاميسين. ولكن الوقاية التي قدمها الكارنتين في تلك الدراسات لم تكن كاملة كما أن آلياتها غير معروفه. علاوة على ذلك فإن تأثير الجنتاميسين على وظائف الكلى و الكبد و عضلة القلب 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 للتسمم الكلوي و الكبدى المحدث بواسطة الجنتاميسين ومدى تأثير ذلك النقص في وظائف الكلى و القلب والكبد.
- 2- معرفة الآليات المحتمله التي يستطيع من خلالها الكارنتين الوقايه ضد التسمم الكلوى و الكبدى الناتج عن الجنتاميسين.

منهجية البحث :-

ويتبع 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 وأثناء ذلك يتم حقن هذه الجرذان في التجويف البريتوني بدواء الجنتاميسين بجرعه واحده يومية مقدارها (80مج/كجم) لمدة عشرة أيام متتالية. ولتحقيق أهداف هذه الدراسة سوف يتم قياس المؤشرات التالية :-

- مستويات الكرياتينين واليوريا في الدم كدلائل للتسمم الكلوى
- مستويات إنزيمات (ALT, AST) كدلائل للتسمم الكبدى
- مستويات الكارنتين في الدم والأعضاء المختلفة
- مستويات الكارنتين في أنسجة الكلى و الكبد
- مستويات الجنتاميسين في الدم والأعضاء المختلفة
- مستويات الطاقة (ATP) في الأعضاء المختلفة
- مستويات الأنزيمات المضاده للشوارد الجامحة
- مستويات جلوتاثيون المختزل والمالوندهيد وأكسيد النيتريك في الأعضاء المختلفة

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 Gentamicin-Induced Hepatorenal Dysfunction in Carnitine Depleted Rats by D-carnitine and γ -Butyrobetaine Hydroxylase Inhibitor.

Research Problem:

Gentamicin, an aminoglycoside antibiotic, is widely used in the treatment of severe gram negative infections . Nevertheless, both clinical and experimental studies report a dose-limiting nephrotoxicity, which accounts for 20 % of all cases of acute renal failure and restricts its optimal use. Gentamicin is one of the most common causes of acute renal failure and promotes both increased morbidity and greater healthcare costs. Although the changes in Gentamicin dosing from multiple-daily to once-daily doses has reduced the risk of nephrotoxicity, the incidence of Gentamicin-induced acute renal failure still remains high. Although several mechanisms have been suggested to account for Gentamicin-induced nephrotoxicity, the precise mechanisms underlining this pathogenesis are not yet completely understood. Gentamicin is a well-known renal tubular toxin, that might leads to increase the excretion of a number of vital endogenous substances including 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. Recent study have demonstrated that L-carnitine ameliorates Gentamicin-induced renal injury in rats. However, the protection achieved by L-carnitine was not complete and its mode of action was unclear. Moreover, the effects of Gentamicin on kidney and liver functions 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 is risk factor and should be viewed as a mechanism in Gentamicin-induced nephrotoxicity, and if so, what are the consequences of this condition on hepatic and cardiac functions?. To determine whether L-carnitine would offer a significant protection against Gentamicin-induced organs toxicity and to gain insights into the possibility of mechanism-based protection by L-carnitine against these adverse effects of Gentamicin.

Research Methodology:

To achieve the ultimate goal of this proposal, a total of 60 male wistar albino rats will be used and divided at random into 6 groups of 10 animals each. The first three groups will receive normal saline (0.5 ml/200 gm body weight, I.P.), L-carnitine (200 mg/kg), and D-carnitine (200 mg/kg) plus Mildronate (200 mg/kg) via drinking water, respectively, for 10 successive days. The 4th, 5th, and 6th groups will receive the same doses of normal saline, L-carnitine and D-carnitine plus Mildronate, respectively, and Gentamicin (80 mg/kg, I.P.) for 10 successive days. 24 hours after Gentamicin 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- Hepatotoxicity indices (ALT and AST)
- 3- Plasma carnitine level using HPLC.
- 4- Total carnitine level in kidney and liver tissues using HPLC.
- 5- High energy nucleotide in kidney and liver tissues using HPLC.
- 6- Plasma Gentamicin level using HPLC.
- 7- Gentamicin level in kidney and liver tissues using HPLC.
- 8- Markers of oxidative damage and lipid peroxidation including malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) contents in kidney and liver tissue homogenates.
- 9- Histopathological changes in kidney 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

Gentamicin, an aminoglycoside antibiotic, is widely used in the treatment of severe gram negative infections . Nevertheless, both clinical and experimental studies report a dose-limiting nephrotoxicity, which accounts for 20 % of all cases of acute renal failure and restricts its optimal use. Gentamicin is one of the most common causes of acute renal failure and promotes both increased morbidity and greater healthcare costs. Although the changes in Gentamicin dosing from multiple-daily to once-daily doses has reduced the risk of nephrotoxicity, the incidence of Gentamicin-induced acute renal failure still remains high. Although several mechanisms have been suggested to account for Gentamicin-induced nephrotoxicity, the precise mechanisms underlining this pathogenesis are not yet completely understood. Gentamicin is a well-known renal tubular toxin, that might leads to increase the excretion of a number of substances including amino acids, glucose, phosphate, sodium, magnesium and L-carnitine.

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 L-carnitine ameliorates Gentamicin-induced renal injury in rats. However, the protection achieved by L-carnitine in this study was not complete and its mode of action was unclear. Moreover, the effects of Gentamicin on kidney and liver functions under condition of carnitine depletion and the role of carnitine during development of Gentamicin-induced organs toxicity 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 Gentamicin-induced nephrotoxicity, and if so, what are the consequences of this condition on cardiac and hepatic functions?. To determine whether carnitine supplementation would offer a significant protection against Gentamicin-induced organs toxicity and to gain insights into the possibility of mechanism-based protection by L-carnitine against these adverse effects of Gentamicin.

Literature Review

Gentamicin, an aminoglycoside antibiotic, is widely used in the treatment of severe gram negative infections . Nevertheless, both clinical and experimental studies report a dose-limiting nephrotoxicity, which accounts for 20 % of all cases of acute renal failure and restricts its optimal use [1,2]. Gentamicin is one of the most common causes of acute renal failure and promotes both increased morbidity and greater healthcare costs [3]. Although the changes in Gentamicin dosing from multiple-daily to once-daily doses has reduced the risk of nephrotoxicity, the incidence of Gentamicin-induced acute renal failure still remains high [4]. Several mechanisms have been suggested to account for cisplatin-induced nephrotoxicity. These includes oxidative stress injury [5], binding to anionic phospholipids and altering the structure and function of cellular membranes [6], ATP depletion and inhibition of oxidative phosphorylation [7]. Gentamicin is a well-known renal tubular toxin, that might leads to increase the excretion of a number of vital endogenous substances including L-carnitine.

L-carnitine is a natural compound 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]. Recent study have demonstrated that L-carnitine ameliorates Gentamicin-induced renal injury in rats [11]. However, the protection achieved by L-carnitine in this study was not complete and its mode of action was unclear. Moreover, the effects of Gentamicin on kidney and liver functions under condition of carnitine depletion and the role of carnitine in Gentamicin-induced organs toxicity are not studied yet. Therefore, the aim of this proposal is to investigate whether carnitine deficiency 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 combined administration of D-carnitine (the inactive isomer) and Mildronate (γ -butyrobetaine hydroxylase inhibitor). 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 60 male wistar albino rats will be used and divided at random into 6 groups of 10 animals each. The first three groups will receive normal saline (0.5 ml/200 gm body weight, I.P.), L-carnitine (200 mg/kg), and D-carnitine (200 mg/kg) plus Mildronate (200 mg/kg) via drinking water, respectively, for 10 successive days. The 4th, 5th, and 6th groups will receive the same doses of normal saline, L-carnitine and D-carnitine plus Mildronate, respectively, and Gentamicin (80 mg/kg, I.P.) for 10 successive days. 24 hours after Gentamicin 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. Nephrotoxicity indices (blood urea nitrogen and serum creatinine).

- 1- Cardiotoxicity indices (serum lactate dehydrogenase and CK-MB).
- 2- Hepatotoxicity indices (ALT and AST)
- 3- Plasma carnitine level using HPLC.
- 4- Total carnitine level in kidney, heart and liver tissues using HPLC.
- 5- High energy nucleotide in kidney, heart and liver tissues using HPLC.
- 6- 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- Humes HD, Weinberg JM: Toxic nephropathies, In: Brenner MB, Rector Jr FE, eds. *Kidney*. Philadelphia: Saunders, 1986: 1453-1491.
- 2- Elisenber JM, Koffer H, Glick RA, Cornvell ML et al. What is the cost of nephrotoxicity associated with aminoglycosides?. *Ann Intern Med* 1987; 107: 900-909.
- 3- Kaloyanides GJ, Bosmans JL, De Broe ME: Antibiotic-and immunosuppression-related renal failure. In: Schrier RW, Gottschalk CW, eds. *Diseases of the kidney*. 1997; Vol.2: 1115-1151.
- 4- Ferriols-Lisart R, Alos-Alminana: Effectiveness and safety of once-daily aminoglycosides: A meta-analysis. *Am J Health-Syst Pharm* 1996; 53: 1141-1150.
- 5- Walker PD, Barri Y, Shah SV: Oxidant mechanisms in gentamicin nephrotoxicity. *Renal Failure* 1999; 21: 433-442.
- 6- Ramsammy LS, Kaloyanides GJ: Effect of gentamicin on the transition temperature and permeability to glycerol of phosphatidylinositol-containing liposomes. *Biochem Pharmacol* 1987; 36:1179-1181.
- 7-Weinberg JM, Humes HD: Mechanisms of gentamicin-induced dysfunction of renal cortical mitochondria.1.Effects on mitochondrial respiration. *Arch Biochem Biophys* 1980; 205: 222-231.
- 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- Kopple JD, Ding H, Letoha A, Ivanyi B, Qing DP, Dux L, Wang H, Sonkodi S: L-carnitine ameliorates gentamicin-induced renal injury in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 2122-2131.

الميزانية التفصيلية
Detailed Budget

Investigators (1)

(1) الباحثون

المبلغ المطلوب Funds in SR	التفاصيل Details	
	مقدار الجهد بالشهر Effort in months	أسماء الباحثين Names of Investigators
12000 = (10 شهر) x 1200		(1) د. محمد محمد سيد احمد
= (12 شهر) x 1000 12000		(2) ا.د. عثمان بن عبد الله الشبانة
= (شهر) x 1000		(3)
= (شهر) x 1000		(4)
= (شهر) x 1000		(5)
24000	مجموع البند (1) (لا يزيد عن 40% من الميزانية الإجمالية Total(1) للبحث)	

Assistants(2)

(2) مساعدون

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)

20000	(أ) الأجهزة والبرمجيات (a) Equipments & software 1- Omni Homogenizer 2- Water Path	
8000	(ب) المواد (b) Materials Kits I-Aminoanthracen EDC D-carnitine Propionyl-l-carnitine	
8000	(ج) التجهيزات (c) Supplies 1- HPLC Columns and accessories 2- SAX-Isolute Cartridge	
36000	Total (3)	مجموع البند (3)

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

	Computer services	خدمات الحاسب الآلي
--	-------------------	--------------------

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

60000	Grand Total	المجموع الكلي
--------------	-------------	---------------

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