



# Klinik Öncesi Çalışmalarda Kullanılan Nefroüroloji Modelleri ve Görüntüleme

## Nephrourologic Models and Imaging Methods Used in Preclinical Studies

• Fikriye Gül Gümüşer, • Elvan Sayıt

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

### Öz

Klinik öncesi nefroürolojik hayvan modelleri oluşturulma şekline göre cerrahi ve toksik olmak üzere iki türüdür. Bu modeller aminoglikozitlerle oluşturulan böbrek toksisitesi, ureteropelvik bileşkede tıkanıklık, piyelonefrit ve vezikoüreteral reflüdür. Oluşturulan nefroürolojik modellerin görüntülenmesinde kullanılan nükleer tıp yöntemleri renal kortikal sintigrafi ve dinamik böbrek sintigrafisidir.

**Anahtar Kelimeler:** Nefroürolojik hayvan modelleri, Tc-99m DMSA, Tc-99m MAG3, Tc-99m DTPA

### Abstract

Preclinical nephrourological animal models are divided into two different types as surgical and toxic according to the way they are formed. These models are renal toxicity induced by aminoglycosides, congestion in the ureteropelvic junction, pyelonephritis and vesicoureteral reflux. Nuclear medicine procedures used in imaging of nephrourological models are renal cortical scintigraphy and dynamic renal scintigraphy.

**Keywords:** Nephrourological animal models, Tc-99m DMSA, Tc-99m MAG3, Tc-99m DTPA

### Klinik Öncesi Çalışmalarda Kullanılan Nefroüroloji Modelleri ve Görüntüleme Yöntemleri

Moleküler görüntüleme tıp alanında önemli bir yere sahiptir. Moleküler ve hücresele seviyede noninvaziv olarak görüntü elde etmemizi sağlar. İmajlar iki ya da üç boyutlu, statik veya dinamik görüntüler şeklinde olabilir. Tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi (SPECT), pozitron emisyon tomografi (PET), manyetik rezonans görüntüleme, bilgisayarlı tomografi (BT) ultrason, gibi tekniklerle de görüntüler elde edilmektedir (1).

Son zamanlarda SPECT ve PET/BT teknikleri prelinik çalışmalarda özellikle küçük deney hayvan modellerinde tercih edilen görüntüleme yöntemleridir. Normal fizyoloji, anatomi ve hastalık modellerinde kullanılmaktadır (1).

Böbrek hastalıklarının tanı ve takibinde nükleer tıp yöntemlerinin önemli yeri vardır. Nükleer tıp yöntemleri hem anatomik hem de fonksiyonel görüntülemeye olanak sağlar.

Nükleer tıpta böbreklerin değerlendirilmesinde kullanılan radyofarmasötikler başlıca iki grupta sınıflandırılabilir. Birinci grup radyofarmasötikler, böbreklerden hızla atılan ve böylece böbrek fonksiyonlarını ve idrar akışını değerlendirmeye olanak veren radyofarmasötiklerdir. Bu radyofarmasötiklerin başlıcaları Tc-99m dietilentriaminpentasetik asit (DTPA), Tc-99m merkaptosetiltriglisin (MAG3), Tc-99m etilendisistein (EC), I-123 veya I-131 ortoiyodohippuratır (2,3,4).

İkinci grupta, böbrek parankiminde konsantre olarak böbrek parankiminin görüntülenmesine

#### Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Prof. Dr. Fikriye Gül Gümüşer, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nükleer Tıp Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye

**E-posta:** fggumuser@hotmail.com **ORCID ID:** orcid.org/0000-0001-7103-2323

©Telif Hakkı 2019 Türkiye Nükleer Tıp Derneği / Nükleer Tıp Seminerleri, Galenos Yayınevi tarafından yayınlanmıştır.

olanak veren radyofarmasötikler yer alır. Bu gruptaki radyofarmasötikler Tc-99m dimerkaptosüksinik asit (DMSA) ve Tc-99m glukohexonattır (GH). Tc-99m DMSA, renal kortikal sintigrafi için ideal bir radyofarmasötiktir. Enjeksiyonu takiben yaklaşık %90'ı plazma proteinlerine bağlanır. Büyük oranda böbrek parankiminde birikir. Enjeksiyondan 2 saat sonra verilen miktarın %40-65'i böbrekte proksimal tübül hücrelere bağlanır. Tc-99m GH her iki gruba dahil edilebilir. Çünkü verilen dozun %65'i 6 saat içinde idrarla atılır. %10-15'i ise böbrek parankiminde tutulur (5).

Hayvan modelleri, oluşturulma şekline göre toksik modeller ve cerrahi modeller olmak üzere ikiye ayrılır. Cerrahi olarak üreteral tıkanıklık ve böbrek iskemisi/reperfüzyon çalışmaları ile oluşturulurken, toksik modeller özellikle aminoglikozitlerle indüklenen nefrotoksisite modelleridir (5,6,7).

### Toksik Modeller

Hayvan modelleri, akut böbrek yetmezliğinin (ABY) oluşturulması sonrası etkili tedavinin geliştirilmesinde çok önemli rol almaktadır. Böbrek yetmezliğinin oluşturulmasında etiyoloji çok yönlü olduğundan, birçok hayvan modeli geliştirilmiştir.

Her hayvan modeli belirli bir metodoloji ile oluşturulduğundan, modeli ayrıntılı bir şekilde tanımlamak ve sonuçların belirli bir model bağlamında yorumlanması çok önemlidir (7). Gliserolün neden olduğu ABY, iskemisi, miyoglobülinin neden olduğu tübül nefrotoksisite ve sitokinlerle ilişkilidir.

Böbrek yetmezliğini indüklemek için sıçanlarda uygulanan metod %50 gliserolün 8 mL/kg her iki arka bacağına, kas içine derin olarak uygulanması yöntemidir.

Tavşanlarda ise 10 mg/kg gliserolün kas içine enjeksiyonu şeklindedir. Bu model insanlarda travma sonrası çizgili kas hücrelerinin harabiyeti sonrası oluşan ABY modelini oluşturur (Crush sendromu) (7).

İskemisi-reperfüzyon ile oluşturulan deneysel ABY'ye örnek olarak köpeklerde sol renal arterin 1 saat boyunca kelepçelenmesi sonrası 3 saat içinde ABY geliştiği bildirilmiştir (8). Sıçanlarda ise her iki böbrek arter ve veninin 60 dakika boyunca kelepçelenmesi ile 24 saat içinde ABY oluşturulduğu gibi yine sol renal arterin 25-37 dakika kelepçelenmesiyle de oluşturulabilir (9). İnsanlarda hemodinamik değişikliklerin neden olduğu böbrek fonksiyonlarındaki değişiklikleri modellemek için yaygın olarak kullanılan hayvan modeli 45 dakikalık iskemisi sonrası 24 saat reperfüzyondur (7).

Toksik modeller özellikle aminoglikozitlerle indüklenen nefrotoksisite modelleridir. Ayrıca kanser tedavisinde kullanılan sisplatin ile oluşturulduğu gibi non steroid anti enflamatuvar ilaçlarla ve kontrast ilaçlarla oluşturulan modellemeler vardır (7,10).

Fatemikia ve ark. yaptıkları çalışmada birinci grup sıçana Gentamisin 100 mg/kg/gün 1 mL içinde intraperitoneal olarak 7 gün boyunca uygulayarak, ikinci gruba ise tek taraflı üreteri bağlayarak nefrotoksisite oluşturmuşlardır (6).

Öktem ve ark. sıçanlara intraperitoneal Vankomisin 200 mg/kg günde iki kez şeklinde 7 gün süre ile uygulayarak nefrotoksisite oluşturmuşlardır. Vankomisin ile indüklenen nefrotoksisitenin mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir (11).

### Cerrahi Modeller

#### Deneysel Tek Taraflı Üreteropelvik Bileşke Kısmi veya Tam Obstrüksiyon Modeli

Üreteropelvik bileşke tıkanıklığı, idrarın pelvisden üretere geçişinin anatomik veya fonksiyonel sebeplerle engellenmesidir. Üreteropelvik tıkanıklık çocukluk çağı hidronefrozunun en sık sebebidir. Çocuklarda böbrek yetmezliğinin en sık sebepleri arasındadır (12,13).

ABY üre ve kreatinin birikmesi ile idrar çıkışının bozulması sonucu hızla böbrek fonksiyonlarının kötüleşmesidir (13). Obstrüksiyona bağlı olarak gelişecek böbreğin yapısal ve morfolojik değişiklikleri, obstrüksiyonun derecesine, süresine ve enfeksiyon olup olmamasına göre değişir. Obstrüksiyon ne kadar proksimalde olursa böbrekler üzerindeki basınç etkisi o kadar fazla olacaktır. Artmış basıncın etkisi ile önce kalikslerde dilatasyon gözlenir. Özellikle akut obstrüksiyonlarda erken dönemde hidronefroz veya dilatasyon görülmeyebilir. Daha sonra iskemik atrofi oluşur ve papillalar önce düzleşir, sonra konveksleşir. Obstrüksiyonun devamı halinde renal parankimal hasar oluşmaya başlar (13,14).

Üreteropelvik bileşke tıkanıklıklarında özellikle renal tübül hasar meydana gelmektedir. Obstrüktif üropatinin tanısında ultrasonografi, sintigrafi, intravenöz piyelografi ve manyetik rezonans ürografi gibi değişik inceleme yöntemleri kullanılmaktadır (13,14,15,16,17).

Thornhill ve ark. yaptıkları çalışmada tek taraflı üreteral kısmi tıkanıklık modelini tanımlamışlardır. Bu çalışma ve benzeri çalışmalarda uygulanan modeli anlatacak olursak; çalışma için sıçanların beslenmeleri deneyden 24 saat önce kesilmeli ve sadece su

içmelerine izin verilmelidir. Genel anestezi altında, supin pozisyonunda, betadinle deri asepsisi sağlandıktan sonra sol paramedian insizyon yapılır. Cerrahi işlem uygulanan sıçanların herhangi birinin böbreğinde anormal bir kitle veya piyelonefrit bulgusu olup olmadığı kontrol edilmelidir. Eğer böyle bir durum varsa bu sıçanlar çalışma dışı bırakılmalıdır. Sol böbrek ve üreter bulunduktan sonra, sol üreter üreteropelvik bileşkeye yakın bir bölgede künt diseksiyonla çevre dokulardan serbestleştirilmelidir. Daha sonra 3 cm uzunluk, uygun çaplardaki kılavuz tel üreterin yanına yerleştirildikten sonra, kılavuz tel ve üreter birlikte serbest 7/0 prolensütür kullanılarak bağlanır (0,25-0,30 şiddetli; 0,35 orta; 0,60-0,95 mm hafif tıkanıklık). Her düğümde aynı gerginliğin sağlanmasına özen gösterilmelidir. Daha sonra kılavuz tel dikişin içinden çıkartılır. Böylece Thornhill ve ark. tarif ettiği şekilde parsiyel üreteropelvik bileşke darlık modeli oluşturulmuş olur. Ardından abdominal katlar 4/0 ipek ile ayrı ayrı iki tabaka olacak şekilde devamlı sütürlerle kapatılır (13).

Sham operasyonu için sıçanlar üreteropelvik bölge bağlanmadan diseke edilir. Sadece laparotomi yapılan gruptur (13).

### Piyelonefrit Modeli

Çocuklarda piyelonefrit, akut morbiditeye neden olabileceği gibi ileriki yıllarda hipertansiyon ve kronik böbrek yetmezliğine öncülük edebilecek böbrek parankim zedelenmesiyle de ilişkilidir. Çocukluk çağında idrar yolu enfeksiyonunun en sık (%90) etkeni *Escherichia Coli*'dir. Çocuklarda tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları sonrasında piyelonefrit tablosu oluşabilir (18,19,20).

Sıçanlarda piyelonefrit oluşturmak üzere *Escherichia Coli* ATCC 25922 suşu kullanılır. Bir mililitresinde  $10^{10}$  bakteri içeren solüsyon hazırlanarak aynı gün sıçanlara uygulanır. Sıçanlar genel anestezi altında, supin pozisyonunda iken karın ön duvarları betadinle silindikten sonra, vertikal abdominal insizyon ile batin açılıp her iki böbrek açığa çıkartılır. Cerrahi işlem uygulanan sıçanların herhangi birinin böbreğinde anormal bir kitle veya piyelonefrit bulgusu olup olmadığı kontrol edilmelidir. Eğer böyle bir durum varsa bu sıçanlar çalışma dışı bırakılmalıdır. Açığa çıkartılan böbreklere  $10^{10}$  bakteri/mL *Escherichia Coli* ATCC 25922 suşu içeren 0,1 mL bakteri solüsyonu insülin enjektörü ile kortekslerinden girilerek medullaya ulaşınca dek yavaş yavaş enjekte edilir, sonra insizyon bölgesi dikilerek kapatılır (18,19,20).

### Vezikoüreteral Reflü Modeli

Vezikoüreteral reflü (VUR), mesaneden üst üriner sisteme idrarın geri kaçmasıdır. Normal çalışan bir üreterovezikal bileşkede ise idrar üreterden mesaneye rahatlıkla geçebilmeli ancak mesaneden üretere geri kaçış kesinlikle olmamalıdır. Böylece böbrekler mesanedeki yüksek basınçtan ve üriner sistem enfeksiyonundan korunmuş olur. Çocuklarda VUR görülme olasılığı %1 civarındadır. Tanı ve tedavide yetersiz kalındığında renal skar, hipertansiyon ve sonrasında kronik böbrek yetmezliği ortaya çıkmaktadır (21,22,23).

VUR'ye bağlı böbrek parankim hasarının etiyopatogenezi halen tartışmalıdır. Bu konuda yapılan çalışmalarda enfeksiyon olmadan da renal skar geliştiği gösterilmiştir. Reflü nefropatisi VUR'ye eşlik eden renal skar olarak tanımlanabilir. Reflü nefropatisi bir tübülointerstisyel hastalıktır ve genellikle bu tabloya böbrek fonksiyonlarındaki değişiklikler eşlik etmektedir. Böbrek hasarlanmasıyla sonuçlanan bu durum histolojik ve radyolojik olarak tanımlanabilir (21,22).

Deney hayvanlarının büyük bir kısmında VUR intravezikal üreteral tünel çatısının insizyonu ile oluşturulur. Ayrıca üretral orifis bir klemple kapatılıp mesaneye basınç yapılarak da VUR oluşturulabilir (21,22,23).

Biçer ve ark. yaptığı bir çalışmada Yeni Zelanda tipi tavşanlarda uygulanan VUR modellemeye; tavşanlara uygulanan genel anestezi sonrası simfizis pubis üzerinden 2 cm'lik orta hat insizyonu yapılmakta, deri ve deri altı geçilip mesaneye ulaşılmaktadır. Askı sütürleri konularak mesane vertikal olarak açıldıktan sonra sol üreterin submukozal tüneli kateter rehberliğinde cerrahi olarak kaldırılıp kateter çıkarılarak mesane sütürlerle kapatılmalıdır. VUR oluşturulduktan 10 gün sonra tavşanların mesanesine üretral yoldan 6 French nelaton kateter yerleştirilip, mesanedeki idrar boşaltılmış ve opak madde tavşan mesanesine verilip, skopi altında mesane dolumu ve reflü oluşumu belirlenmiştir (22).

Sencan ve ark.'nın yaptığı çalışmada da Yeni Zelanda tipi tavşanlarda üreterin intravezikal bölümünün çatısı insizyonla açılarak VUR oluşturulmuştur (23).

### Nefroörolojik Modellemelerde Sintigrafi

Günümüzde ürogenital sistemin görüntülenmesinde böbrek parankimini değerlendirmek için Tc-99m DMSA böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için Tc-99m DTPA ve MAG3 kullanılmaktadır.

### Tc-99m DMSA Görüntüleme

Böbrekte oluşan parankimal hasarın saptanmasında önemli bir yeri vardır. Split renal fonksiyon hesaplanmasına izin verir.

Molibden 99/Tc-99m jeneratöründen sağım ile elde edilen 740 MBq Tc-99m perteknetat, 3 mL serum fizyolojik ile ticari DMSA kiti bağlanır. Oda sıcaklığında 15 dakika beklendikten sonra kalite kontrol işlemleri uygulanır. İşaretlenme verimliliğinin %95 olması gerekir (5).

Sıçanlara anestezi altında 37 MBq Tc-99m DMSA kuyruk veninden uygulandıktan yaklaşık 2-4 saat sonra gama kamera altında anterior, posterior, sağ ve sol posterior oblikten statik görüntüler alınır. Statik görüntüleme yüksek rezolüsyonlu kolimatör ile 256x256 matriks, 1,5 zoom ve 450000 sayım olacak şekilde planlanmalıdır (24,25). Pinhole kolimatör ile görüntüleme de skar ayrımı için faydalı olmaktadır (26). Yine enjeksiyondan 2-4 saat sonra yüksek rezolüsyonlu kolimatör ile 64x64 matriks ve 30 s/projeksiyon ile 60 projeksiyonluk SPECT görüntüleme yapılabilir (25).

### Dinamik Böbrek Sintigrafisi

Diüretik böbrek sintigrafisi, obstrüktif üropati tanısında altın standart kabul edilen ve dilate toplayıcı sistemin değerlendirilmesinde daha yaygın kullanıma giren minimal invaziv bir yöntemdir. İntravenöz piyelografi ile karşılaştırıldığında radyasyon oranı belirgin şekilde düşüktür ve kontrast maddeye bağlı nefrotoksitesi yoktur.

Sıçanlar genel anestezi altında iken abdomen insizyonla açılıp intrakaval olarak veya kuyruk venine takılan kateterden Tc-99m MAG3 37 MBq/0,2 mL olacak şekilde uygulanır (21). Enjeksiyondan hemen sonra ilk dakikada 1 saniyelik 60 frame, ardından 60 saniyelik 39 frame olacak şekilde 40 dakikalık dinamik görüntüler alınır. Dinamik görüntüleme 64x64 matriks ve yüksek sayım hassasiyetine sahip kolimatör ile yapılmalıdır. Çalışmanın 20. dakikasında 1 mg/kg olacak şekilde diüretik enjeksiyonu yapılır. Her iki böbreğe çizilen ilgi alanları ile elde edilen eğriler dikkate alındığı gibi görsel olarak da görüntüler değerlendirilir (3).

Ayrıca farklı bir çekim yöntemi olarak 1,5-2 mCi, Tc-99m MAG3 kuyruk venine 24 F kateter ile damar yolu açıldıktan sonra; 128x128 matrikste, 2,55 zoom faktörü kullanılarak 60 frame/2 saniye; 16 frame/15 saniye ve 24 frame/60 saniye olacak şekilde de sintigrafik görüntüler alınmaktadır (27). Klinikler çekim protokolünü kendi kliniklerine ve yaptıkları çalışmaya göre düzenleyebilmektedirler.

Yazıcı ve ark.'nın çalışmasında tavşanlarda parsiyel üreteral tıkanıklık oluşturmuşlardır. Çalışmadan 30 dakika önce hayvanları 10 mL/kg olacak şekilde hidrate etmişler ve intavenöz olarak 1,85 MBq/kg olarak Tc-99m MAG3'ü enjekte etmişlerdir. Çalışmanın 20. dakikasında 1mg/kg furosemid iv olarak verdikten sonra böbrek aktivitesinde %50 azalma izlendiği zamanı T1/2 olarak tanımlamışlardır. Renogram eğrilerinden 1/2 Tmax değerini ve split fonksiyonlarını değerlendirdikleri çalışmalarında T1/2 20 dakikanın üzerinde olanları obstrüktif hidronefroz olarak tanımlamışlardır (17).

### Sonuç

Klinik öncesi deney hayvan modellemeleri ve görüntüleme yöntemleri insanda yapılacak olan çalışmalar öncesinde oldukça önemli bilgiler elde etmemize olanak sağlar.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek alınmadığı bildirilmiştir.

**Çıkar çatışması:** Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

### Kaynaklar

1. Mejia J, Miranda AC, Durante AC, et al. Preclinical molecular imaging: development of instrumentation for translational research with small laboratory animals. *Einstein* 2016;14:408-414.
2. Erbas B, Sayman H, Alan N, et al. Dinamik böbrek sintigrafisi kılavuzu. *TJNM* 2001;10(Suppl):85-91.
3. Nedim C, M. Gülaldı, Tamer Aksoy, et al. TNTD, çocuklarda dinamik böbrek sintigrafisi uygulama kılavuzu 2.0. *Nük Tıp Sem* 2015;1:15-18.
4. Okumuş E, Erdoğan M. Ürolojik ve nefrolojik problemleri olan çocuklarda MAG3 kitinin DTPA kitine göre avantajı. *Selçuk Üniv Fen Fakültesi Fen Dergisi* 2016;42:57-63.
5. Özcan Kara P, Aksoy T, Aydın F, et al. TNTD, çocuklarda renal kortikal sintigrafi uygulama kılavuzu 2.0. *Nük Tıp Sem* 2015;1:8-14.
6. Fatemikia H, Seyedabadi M, Karimi Z, Et al Comparison of 99mTc-DMSA renal scintigraphy with biochemical and histopathological findings in animal models of acute kidney injury. *Mol Cell Biochem* 2017;434:163-169.
7. Singh AP, Junemann A, Muthuraman A, et al. Animal models of acute renal failure. *Pharmacol Rep* 2012;64:31-44.
8. Yatsu T, Arai Y, Takizawa K, et al. Effect of YM435, a Dopamine DA1 receptor agonist, in a canine model of ischemic acute renal failure. *Gen Pharmacol* 1998;31:803-807.
9. Susa D, Mitchell JR, Verweij M, et al. Congenital DNA repair deficiency results in protection against renal ischemia reperfusion injury in mice. *Aging Cell* 2009;8:192-200.

10. Yürekli Y, Ünak P, Yenisey C, et al. L-Carnitine Protection against cisplatin nephrotoxicity in rats: comparison with amifostin using quantitative renal Tc 99m DMSA uptake. *Mol Imaging Radionucl Ther* 2011;20:1-6.
11. Oktem F, Koyuncu Arslan M, Ozguner F, et al. In vivo evidences suggesting the role of oxidative stress in pathogenesis of vancomycin-induced nephrotoxicity: Protection by erdosteine. *Toxicology* 2005;215:227-233.
12. Kaçar M, Çetin E, Çalışkan Y, et al. Deneysel tek taraflı üreteropelvik bileşke obstrüksiyonunda karşı böbrek parankiminde görülen erken ve geç dönem değişiklikler. *Çocuk Cerrahisi Dergisi* 2010;24:113-120.
13. Thornhill BA, Burt LE, Chen C, et al. Variable chronic partial ureteral obstruction in the neonatal rat: a new model of ureteropelvic junction obstruction. *Kidney Int* 2005;67:42-52.
14. Cachat FO, Lange-Sperandio B, Chang AY, et al. Ureteral obstruction in neonatal mice elicits segment-specific tubular cell responses leading to nephron loss. *Kidney Int* 2003;63:564-575.
15. Ma MC, Huang HS, Chen CF. Impaired renal sensory responses after unilateral ureteral obstruction in the rat. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1008-1016.
16. Sancak EB, Tan YZ, Turkon H, Silan C. Attenuation of partial unilateral ureteral obstruction-induced renal damage with hyperbaric oxygen therapy in a rat model. *Int Braz J Urol* 2017;43:946-956.
17. Yazıcı M, Celebi S, Kuzdan Ö, et al. Current radiological techniques used to evaluate unilateral partial ureteral obstruction: an experimental rabbit study. *Int Urol Nephrol* 2015;47:1045-1050.
18. Sadeghi Z, Kajbafzadeh A, Tajik P et al. Vitamin E administration at the onset of fever prevents renal scarring in acute pyelonephritis. *Pediatr Nephrol* 2008;23:1503-1510.
19. Hewitson TD, Darby IA, Bisucci TT, et al. Evolution of tubulointerstitial fibrosis in experimental renal infection and scarring. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:632-642.
20. Sabetkish N, Sabetkish S, Mohseni MJ, Kajbafzadeh AM. Prevention of renal scarring in acute pyelonephritis by probiotic therapy: an experimental study. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2017.
21. Bowen SE, Watt CL, Murawski IJ, Gupta IR, Abraham SN. Interplay between vesicoureteric reflux and kidney infection in the development of refluxnephropathy in mice. *Dis Model Mech* 2013;6:934-941.
22. Biçer Ş, Yurtçu M, Köylü Ö, et al. Veziköüreteral reflüde reflü nefropatisine melatoninin etkisi. *Genel Tıp Derg* 2009;19:161-167.
23. Sencan A, Vatansever S, Yılmaz O, et al. Early renal parenchymal histological changes in an experimental model of vesico-ureteral reflux and the role of apoptosis. *Scand J Urol Nephrol*. 2008;42:213-219.
24. Tyson R, Daniel GB. Renal scintigraphy in veterinary medicine. *Semin Nucl Med* 2014;44:35-46.
25. Silva-Rodriguez J, Cortes J, Pardo-Montero J, et al. In vivo quantification of renal function in mice using clinical gamma cameras. *Physica Medica* 2015;31:242-247.
26. Young K, Daniel GB, Bahr A. Application of the pin-hole collimator in small animal nuclear scintigraphy: a review. *Veterinary Radiology Ultrasound* 1997;38:83-93.
27. Üstün F. Deneş Hayvanlarında Nükleer Tıp Görüntü Atlası. In: Durmuş Altun G Üstün F, editors. *Deneş Hayvanlarında Moleküler Görüntüleme*. 1nd Edition. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2015p:265-281.