

Laboratuvar Hayvanlarında Deneysel Nefrotoksisite Modelleri

Experimental Nephrotoxicity Models in Laboratory Animals

Hikmet Özgün İŞCAN¹
Abdurrahman AKSOY¹



¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.



Öz

Hastalıkların mekanizmalarını daha iyi anlamak ve etkili tedavi yöntemleri geliştirebilmek amacıyla *in vivo* ve *in vitro* modellerin kullanımı, modern tıbbın ve biyomedikal araştırmaların temel taşlarından biri olarak kabul edilmektedir. Deney hayvanları, bilimsel araştırmalar için vazgeçilmez bir gereklilik olarak karşımıza çıkmakta ve hastalıkların patofizyolojisini anlamada kritik bir rol oynamaktadır. Nefrotoksisite, böbrek dokusunun çeşitli kimyasal maddeler veya ksenobiyotikler tarafından maruz kaldığı zararlı etkileri ifade eder. Bu durum, böbrek hasarına yol açabilecek birçok farklı madde tarafından tetiklenebilir. Örneğin, antibiyotikler (özellikle aminoglikozidler ve vankomisin), non-steroidal antiinflamatuar ilaçlar (NSAID'ler), antiviral ilaçlar, tıbbi görüntüleme için kullanılan kontrast maddeler, ağır metaller (kurşun ve cıva) ve kemoterapi ilaçları, böbrek dokusu üzerinde toksik etkiye sahip maddeler arasında yer alır. Böbrekler, bu ilaçlar ve kimyasalların toksik etkilerine karşı oldukça savunmasızdır ve bu savunmasızlık, ciddi böbrek hasarlarına yol açabilir. Ksenobiyotikler, özellikle ilaçlar, akut böbrek hasarı (ABH), kronik böbrek hastalığı (KBH), akut böbrek yetmezliği (ABY) ve son dönem böbrek hastalığı (SDBH) gibi ciddi sağlık sorunlarının önde gelen nedenleri arasındadır. İlaç kaynaklı nefrotoksisite, genellikle üç ana mekanizma üzerinden incelenir: Proksimal tübüler hasar ve akut tübüler nekroz (ATN), kristal formdaki ksenobiyotik veya ilaç metabolitlerinin neden olduğu tübüler tıkanıklık ve ilaçlar ile metabolitlerinin indüklediği interstisyel nefrit. Böbrek fonksiyonlarını gösteren biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler, nefrotoksisitenin tanısında kritik bir rol oynar. Bu derlemede, deneysel nefrotoksisite modelleri, tanısında kullanılan biyobelirteçler ve bu biyobelirteçlerin klinik önemleri ayrıntılı olarak ele alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Böbrek, Gentamisin, Hayvanlar, Laboratuvar, Nefritis.

ABSTRACT

The use of *in vivo* and *in vitro* models to better understand disease mechanisms and develop effective treatment methods is considered one of the cornerstones of modern medicine and biomedical research. Experimental animals are an indispensable necessity for scientific research, playing a critical role in understanding the pathophysiology of diseases. Nephrotoxicity refers to the harmful effects exerted on kidney tissue by various chemical substances or xenobiotics. This condition can be triggered by a wide range of substances capable of causing kidney damage. For instance, antibiotics (particularly aminoglycosides and vancomycin), non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), antiviral agents, contrast agents used in medical imaging, heavy metals (such as lead and mercury), and chemotherapeutic drugs are among the substances with toxic effects on kidney tissue. The kidneys are highly vulnerable to the toxic effects of these drugs and chemicals, and this vulnerability can lead to significant kidney damage. Xenobiotics, particularly drugs, are among the leading causes of severe health issues such as acute kidney injury (AKI), chronic kidney disease (CKD), acute renal failure (ARF), and end-stage renal disease (ESRD). Drug-induced nephrotoxicity is generally examined through three main mechanisms: proximal tubular injury and acute tubular necrosis (ATN), tubular obstruction caused by crystal-forming xenobiotics or drug metabolites, and interstitial nephritis induced by drugs and their metabolites. Changes in biochemical parameters reflecting kidney function play a critical role in diagnosing nephrotoxicity. This review provides a detailed examination of experimental nephrotoxicity models, biomarkers used in diagnosis, and the clinical significance of these biomarkers.

Keywords: Kidney, Gentamicin, Animals, Laboratory, Nephritis.

Geliş Tarihi/Received :22.02.2024
Kabul Tarihi/Accepted :05.09.2024
Yayın Tarihi/Publication Date :19.09.2024

Sorumlu Yazar/Corresponding author:

Hikmet Özgün İşcan

E-mail: hikmetozgun.iscan@omu.edu.tr

Cite this article: İşcan H. Ö., Aksoy A. (2024). Experimental Nephrotoxicity Models in Laboratory Animals. *Journal of Laboratory Animal Science and Practices*, 4(2), 60-71.



Content of this journal is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License.

Giriş

Hastalıklarının mekanizmasını anlamak ve tedavi yöntemleri geliştirmek amacıyla *in vivo* ve *in vitro* düzeyde birçok metot geliştirilmiştir (Khorramizadeh ve Saadat, 2020). *In vivo* deneyler; karmaşık biyolojik etkileşimlerin, organ düzeyindeki fizyolojik tepkilerin ve sistemik yanıtların bütüncül bir şekilde incelenmesine olanak tanıdığı için tercih edilmektedir. Bu modeller insanlardaki belirli bir hastalık sürecini veya patolojik bozuklukları taklit etme amacı taşır (Kaya ve Çelik, 2011).

Hayvan modelleri kavramını anlamak için anahtar kelime "Analoji"dir. Bunun için en kapsamlı tanım, Wessler'ın orijinal tanımı temel alınarak Held tarafından "Spontan veya oluşturulmuş patolojik bir sürecin araştırılabileceği bir canlı organizma ve bu organizmadaki araştırma konusu olan olgunun bir veya daha fazla yönüyle insanlar veya diğer hayvan türleri ile benzerlik göstermesi durumu" şeklinde yapılmıştır. Her iki tanımlama da bir laboratuvar hayvanı modelinin belirlenmesinde dikkat edilmesi gereken ana noktanın türün, hedef türle ortak bir biyolojik temelde olmasının gerekliliği üzerinde durmuştur. Bir hayvan modelinde hayvanın gösterdiği semptomlar ve durumun seyri insanlar ile tamamen aynıysa homolog modeller olarak adlandırılır. Bu gereksinimleri karşılayan modeller oldukça azdır. Buna en iyi örnek, nöro bilimdeki iyi tanımlanmış lezyonlardır. Bir hayvan modelinde, semptomlar insandakiler ile benzerlik gösterse de semptomların nedeni farklıysa, izomorf model olarak adlandırılır (Hau, 2008). Deneysel hayvan modeli oluşturma süreci 3R prensibi çerçevesinde çalışmanın *in vivo* yapılmasının zorunlu olup olmadığı sorusuyla başlar ve Şekil 1'deki aşamaları izler.



Şekil 1. Deneysel hayvan hastalık modeli oluşturma süreci.

Figure 1. The process of creating an experimental animal disease model.

Hayvan hastalık modelleri, genel olarak beş grupta incelenir;

- Pozitif ve negatif modeller
- Oluşturulmuş (induced) modeller
- Kendiliğinden gelişen (Spontan) modeller
- Genetiği değiştirilmiş (transgenik) modeller
- Olası (orphan) modeller

Pozitif ve negatif modeller

Pozitif modeller belirli bir hastalığın doğal olarak gelişebildiği canlıları tanımlamak için kullanılan bir terim iken; negatif modeller, belirli bir hastalığın doğal olarak gelişmediği türleri, suşları veya ırkları ifade etmek için kullanılan bir terimdir. Örneğin; diğer hayvanlarda doğal olarak gelişebilen gonokokal enfeksiyonun deneysel bir enfeksiyonla tavşanlarda oluşturulması (Hau, 2008).

Oluşturulmuş (induced) modeller

Deneysel hayvanlarının cerrahi, genetik, kimyasal veya diğer manipülasyonlara maruz bırakılmasıyla normal fizyolojik durumlarında değişiklik oluşturulmasına indüklenmiş modeller adı verilir. İndüklenmiş modellerin en büyük kategorisi, kasıtlı genetik manipülasyonlar sonucu ortaya çıkanlardır (Hau, 2008).

Kendiliğinden gelişen (Spontan) modeller

Spontan modeller, insanlara fenotip olarak benzerlik gösteren hayvanlar veya spontan mutasyon(lar) sonucu ortaya çıkan yeni bir türün (anormal) üyelerinin kullanıldığı modellerdir. En iyi karakterize edilmiş spontan modeller, insanlardaki bozukluklara benzer sonuçlara yol açan doğal mutasyonlara sahip olanlardır. En iyi bilinen spontan modeller arasında Gunn sıçanı (kalıtsal hiperbilirubinemi), Peabald-Lethal ve Lethal Spot fare ırkları (aganglionik megakolon), obez olmayan diyabetik fareler ve BB Wistar sıçanları (tip 1 diyabet), Yeni Zelanda Siyah ve Yeni Zelanda Beyaz fareleri ve bunların melezleri (otoimmün hastalık), Nude fare ırkları (DiGeorge sendromu), SCID fareler (şiddetli kombin immün yetmezlik), Watanabe tavşanları (hiperkolesterolemi), Brattleboro sıçanları (nörojenik diabetes insipidus), obez tavuklar (otoimmün tirodit), spontan hipertansif sıçanlar (SHR- primer hipertansiyon), Duchenne X'e bağlı kas distrofisi olan köpekler ve fareler, hemofili A ve B olan köpekler, hiper-düşük dansiteli lipoproteinemi ve malign hipertermi olan domuzlar, Chediak-Higashi sendromu olan tilkiler, akalazi olan kediler, doğumsal sarılık ve hiperkeratoza sahip sığırlar

veDubin–Johnson sendromu olan koyunlar bulunmaktadır (Maurer ve Quimby, 2015).

Genetik olarak değiştirilmiş (transgenik) modeller

Fare genomu ile insan genomu arasındaki yakınlık, birçok hayvan modelinin ortaya çıkmasına yol açmıştır. Bu yakınlık, istenen insan hastalığı fenotipinin doğrudan taklit edilmesine olanak sağlar. *Knock-in* ve *Knockout* fareler oluşturmak amacıyla çok sayıda teknik kullanılmıştır (Maurer ve Quimby, 2015).

Knock-in modeller

Knock-in modeller, embriyonik kök hücrelerin genetik manipülasyonu ile oluşturulan transgenik hayvanlardır. DNA dizisindeki belirli bir genetik bölgenin değiştirilmesi veya genetik lokusta bulunmayan bir gen ve/veya gen dizisinin eklenmesi ile oluşturulur (Doyle ve ark., 2012).

Knockout modeller

Belirli bir genetik lokalizasyonun hedef alındığı ve hedeflenen bölgedeki gen ve/veya gen dizisinin silinmesi yoluyla elde edilen genetik manipülasyondur (Doyle ve ark., 2012).

Kimyasal mutajenler

Genotipin değiştirilmesi ile fenotip de değiştirilebilir. Kimyasal mutajenlerin kullanılmasıyla belirli fenotipte deney hayvanları üretilebilir. Farklı biyolojik sistemler üzerinde mutajenik etkileri test edilen birçok kimyasal madde bulunmaktadır. Germ hücre aşamalarının duyarlılığına bağlı olarak, kimyasal mutajenler üç gruba ayrılabilir: İlk grup, özellikle kök hücre spermatogonya üzerinde mutasyonlara neden olan ajanları içerir. Bu maddeler arasında N-etil-N-nitrozüre (ENU), metilnitrozüre (MNU), prokarbazin (Prc) ve trietilenmelamin (TEM) bulunmaktadır. ENU, bilinen en güçlü kimyasal mutajendir. İkinci kategori, erken spermatidleri etkileyen kimyasalları içerir. Bu gruba klorambüsil (CHL) ve melfalan dahildir. Üçüncü grup, spermatozoa ve geç spermatidleri etkileyen etil-metansülfonat (EMS), metil metansülfonat (MMS), siklofosamid (CP) ve dietilsülfat (DES) gibi kimyasalları içerir. Spermatogenezin postspermatogoniyal aşamalarını etkileyen kimyasallar genellikle büyük lezyonlara

(intragenik ve intergenik delesyonlar ve yapısal kromozom anormallikleri) neden olur (De Angelis ve ark., 2007).

Radyasyon

Radyasyon, 1920'lerin başına kadar germ hücresi mutajeni olarak kullanılmıştır. X ışınlarının fare spermatogonya, postmeiyotik germ hücreleri ve oositlerde küçük kromozomal anomalilere neden olduğu gösterilmiştir. Yaygın olarak kullanılan radyasyon ile indüklenmiş modeller arasında beige fare (bg), dominant katarakt (Cat-2t) ve cleidocranial displazi bulunmaktadır. X ışınları genellikle büyük delesyonlar ürettiğinden, bu tekniğin pratikte kullanımı oldukça sınırlıdır (Mohammed-Ali ve ark., 2017).

Olası (Orphan) modeller

Bu modellerde kullanılan hayvanlar, insanlarda henüz tanımlanmamış bir hastalık/eksiklik/fonksiyon bozukluğunu gösterirler. Benzer bir hastalık insanlarda tanımlandığında, bir olası model, oluşturulmuş bir modelin temeli haline gelebilir. Örnekler arasında Marek hastalığı, papillomatoz ve sığır spongiform ensefalopati (BSE), koyunlarda Visna virüsü ve kedilerde lösemi virüsü bulunmaktadır (Hau, 2008).

Böbreğin fizyolojik ve patolojik değerlendirmesi

Kemirgen ve insan böbreği fonksiyon, büyüklük ve histolojik yapı yönünden oldukça benzerlik göstermektedir. Böbrekte idrar oluşumunda glomerüler filtrasyon, tübüler geri emilim ve tübüler sekresyon (salgılanma) olmak üzere üç ana süreç rol oynar. Üriner sistem; osmoregülasyon, kan basıncı ve hacmini düzenleme, kırmızı kan hücresi üretiminin uyarılması, kalsiyum emilimi, toksin metabolizması ve atılması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerden sorumludur (Delaney ve ark., 2018).

Nefrotoksisite nedir?

Nefrotoksisite, çeşitli maddelerin böbrekler üzerinde oluşturduğu zararlı etkileri ifade eden bir terimdir. Ksenobiyotikler ve özellikle ilaçlar, akut böbrek hasarının (ABH), kronik böbrek hastalığının (KBH), akut böbrek yetmezliğinin (ABY) ve son dönem böbrek hastalığının (SDBH) ana patojenik faktörlerindedir. Böbrek fonksiyonunu ortaya koyan biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler teşhis için önem arz eder (Wu ve Huang, 2018).

Nefrotoksisite tipleri

Nefrotoksisite sınıflandırması doğrudan tübüler hasar

(aminoglikozitler veya cıva), akut interstisyel nefrit (metisilin), azalmış renal perfüzyon (siklosporin), primer glomerülopati (D-penisilamin) ve tıkanıklık nefropatisi (etilen glikol veya metoksifluran) gibi farklı bölgelere zarar verebilen ilaçlara göre yapılabilir. Ancak ilaç kaynaklı nefrotoksisite genel olarak üç temel mekanizma üzerinden sınıflandırılmaktadır:

- proksimal tübüler hasar ve akut tübüler nekroz (ATN) (doza bağlı mekanizma), ilaçlar veya metabolitleri ile apikal temas, ilaçların ve metabolitlerinin apikal yüzeyden taşınması ve ilaçların bazolateral yüzeyden tübüler lümenine salgılanması yoluyla;
- kristal veya ilaç ve metabolit içeren döküntüler tarafından tübüler tıkanıklık (doza bağlı mekanizma);
- ilaçlar ve metabolitleri tarafından indüklenen interstisyel nefrit (doza bağımsız mekanizma).

(Werner ve ark., 1995).

Laboratuvar hayvanlarında deneysel nefrotoksisite modelleri

Sisplatin (CP) ile oluşturulan akut böbrek hasarı modelleri

Sisplatin, tek başına veya farklı ilaçlarla kombinasyonlar halinde çok sayıda tümöral olgunun (meme, serviks, özofagus, mesane, küçük hücreli akciğer, osteosarkom, skuamöz hücre karsinomu ve testis kanserleri) tedavisinde kullanılmaktadır (Le ve Hanna, 2018).

Sisplatinin, DNA ipliğindeki purin bazlarıyla 1-2 intrastrand veya 1-3 interstrand çapraz bağlar oluşturduğu kabul edilmektedir. Bu çapraz bağlanma, DNA onarım mekanizmalarını bozarak DNA replikasyon şablonunun üretimini engeller ve hücre döngüsünün durmasına sebep olarak, hücre ölümüne yol açar. Güçlü terapotik özelliklerine rağmen, sisplatinin ototoksisite, nörotoksisite ve nefrotoksisite gibi ciddi yan etkilerinin varlığı klinik kullanımını sınırlandırmaktadır (McSweeney ve ark., 2021). Bu durum, renal yapı hasarına ve glomerüler filtrasyon hızında azalmaya, serum kreatinin seviyesinde artışa, kan üre azotu (BUN) seviyesinde artışa ve bir dizi yeni biyobelirteçte değişikliklere neden olarak böbrek fonksiyonlarında bozulmaya yol açar (Zaaba ve ark., 2022).

Sisplatin ile oluşturulan akut böbrek yetmezliği modellerinde genellikle ilk uygulamayı takiben 2. günde semptomlar başlar ve doza bağlı olarak 3 ila 4. günlerde maksimuma ulaşır. Dişiler sisplatin tarafından indüklenen hasara erkeklerden daha duyarlıdır. Bu model oldukça basit

ve tekrarlanabilir bir yapıya sahiptir. Sisplatin nefrotoksisitesi, hastaların üçte birinde sisplatinin klinik kullanımını sınırlandırmasına sebep olmuştur. Tedavi metodundaki gelişmelere rağmen, ABH gelişen hastalarda ölüm riski artmıştır. Sisplatin kaynaklı ABH'yi atlatan vakalarda prognoz kötü olarak değerlendirilir. Bu vakaların kronik böbrek hastalığı ve son aşama böbrek hastalığına ilerleme riski yüksektir (Zaaba ve ark., 2022).

Folik asit ile oluşturulan akut böbrek hasarı modelleri

Folik asit, aynı zamanda B9 vitamini olarak bilinir (Goossens ve ark., 2021). Bu madde, karbon metabolizması içinde yer alarak, hücresel çoğalma ve büyüme için esansiyel bir enzim kofaktörü olarak rol oynar. Folik asit, genellikle yumurta sarısı, hayvan karaciğeri, yapraklı sebzeler ve mayadan elde edilebilir. Folik asit ince bağırsakta emilir ve dihidrofolat redüktaz tarafından hücre içinde tetrahidrofolata dönüştürülür (Dipiro ve ark., 2014).

Düşük molekül ağırlığına sahip bir bileşen olarak Folik asit veya folat, glomerül tarafından filtrelenir. Normal şartlar altında renal folat atılımı gözlemlenemez ve folatın böbreklerde neredeyse tamamı geri emilir. Folatın böbrek geri emilimi, proksimal tübüler epitelyal hücrelerin lümen tarafında bol miktarda bulunan ve yüksek afiniteye sahip folat reseptörleri (folat reseptörü 1) aracılığıyla gerçekleşir. Folat reseptöre bağlandığında endositoz yoluyla hücre içine alınır (Dipiro ve ark., 2014; Goossens ve ark., 2021). Folat tüm hücresel bölmelere dağılırken, bunun %40'ı mitokondrilere yerleşir. Bu da oksidatif stres ve ondan kaynaklı diğer anomalilere neden olur. Ayrıca, dihidrofolat redüktaz tarafından tetrahidrofolat oluşturmak için NADPH'yi bir indirgeme gücü olarak kullanması nedeniyle, böbreklerde biriken yüksek folat seviyeleri hücrel antioksidan sistemlerini ciddi şekilde etkileyebilir. Bu durum ise böbreklerde artmış redoks dengesizliği ve oksidatif stresi beraberinde getirir (Yan, 2021). Daha sonra bu endozomal veziküller, diğer organel membranları ile birleşerek folatın salınmasına neden olur ve bu durum organellerde işlev bozukluğuna yol açar. Folat reseptör geninin baskılanması nedeniyle folat reseptörü eksik farelerde folatın tamamen temizlendiği bu sebeple geri emilim gözlemlenemediği bildirilmiştir (Dipiro ve ark., 2014; Goossens ve ark., 2021).

Folik asit aşırı dozla indüklenen deneysel hayvan modellerinin insanlarda gözlenen ABH'nin ana süreçlerini yinelediği bildirilmiştir. Bu nedenle, Folik Asit'in indüklediği ABH hayvan modeli, ABH'nin patogenezi ve tedavilerini araştırmak için yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Zhang ve ark., 2019).

Gentamisin ile oluşturulan akut böbrek hasarı modelleri

Gentamisin, Gram (-) bakterilerin neden olduğu enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan aminoglikozit grubu bir antibiyotiktir. Gentamisinin avantajları arasında yüksek etki, düşük maliyet, direnç ve aşırı duyarlılık reaksiyon geliştirme ihtimalinin düşüklüğü bulunmaktadır. Ancak aminoglikozitlere bağlı ABH yaygın görülen bir yan etkidir. Nefrotoksisite belirtileri, tedavi uygulanan hastaların yaklaşık %30'unda, 7 günün sonunda ortaya çıkar. Gentamisin kaynaklı nefrotoksisitenin belirtileri; renal inflamatuvar reaksiyonlar, artmış renal oksidatif stres ve bununla ilişkili patolojik sinyal mekanizmalarındaki artıştır (Erseckin ve ark., 2022; Lee ve ark., 2019).

Aminoglikozit kaynaklı ABH, proksimal tübülde iyon taşıma işlev bozukluğuna bağlı olarak hipomagnezemi, hipokalemi, hipokalsemi ve hipofosfatemiyeye yol açar. Gentamisin kaynaklı nefrotoksisitede; gentamisinin lizozomda birikmesinden kaynaklanan fosfolipidoz, endoplazmik retikulumda (ER) artan basınç, protein sentezinin bozulması, mitokondride apoptoz mekanizmasının aktivasyonu, oksidatif stres artışı, enerji üretiminde rol oynayan peroksizom proliferatör-aktive edici reseptör alfa (PPAR α) aktivitesinin azalması ve hücre membranındaki çeşitli taşıyıcıların disfonksiyonunu içeren çok sayıda mekanizma rol oynamaktadır (Lee ve ark., 2019).

Gentamisinin temel nefrotoksik etki mekanizmaları arasında:

- Proksimal tübüler epitelyal hücre nekrozu
- Su ve çözeltilerin taşınmasında görev alan temel hücresel bileşenlerin işlevinin engellenmesi yer almaktadır.

Gentamisin nefrotoksisitesinin merkezi yönü tübüler sitotoksisitedir. Gentamisinin proksimal tübüllerdeki birikimi, proksimal tübüllerde protein ve katyonların taşınmasında görev alan megalin ve kübilin kompleksi ile ilişkilidir. Bu kompleksin gentamisinin endositoz yoluyla taşınmasından sorumlu olduğu bilinmektedir. İlaç daha sonra lizozomlara, golgi aparatına ve endoplazmik retikuluma taşınır. İlacın lizozom birikimi, lizozomal membranın geçirgenliği üzerinde değişikliklere neden olmaktadır. Gentamisin, membran fosfolipitlerine bağlanır, fonksiyonunu değiştirir. Bu durum insan ve deney hayvanlarında fosfolipidoz olarak bilinen bir duruma yol açar (Randjelovic ve ark., 2017).

Gentamisin kaynaklı ABH'nin temel olarak proksimal tübül ve toplama hücrelerinin apoptozunda kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu nedenle, gentamisin'in neden olduğu nefrotoksisitenin kesin mekanizması tam olarak netleşmemiş olup, temel patofizyolojinin reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesi, apoptoz, artmış endotelin-1 seviyeleri ve artmış hücresel infiltrasyonun neden olduğu vurgulanmaktadır (Balakumar ve ark., 2010).

Organeller içindeki gentamisin konsantrasyonu bir eşığı aştığında, gentamisin sitozola salınır. Gentamisin'in mitokondri üzerinde etki ettiği ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu teşvik ettiği, bu da mitokondrial geçirgenlik geçiş gözeneklerinin açılmasına ve apoptozun intrinsik yolunu tetiklemesine neden olduğu gösterilmiştir. Gentamisin ayrıca doğrudan mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin üretimini uyarabilir, solunum zincirini ve ATP üretimini inhibe edebilir, sitokrom C ve diğer proapoptotik faktörlerin salınımını teşvik edebilir ve apoptoza neden olabilir (Huang ve ark., 2020).

Karadeniz ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada, gentamisin kaynaklı nefrotoksisitenin artmış ROS üretiminin oksidatif stresle ilişkili enzimin inaktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Aşırı ROS üretimi, ATN ve azalmış glomerüler filtrasyon oranından (GFR) sorumludur ki bu, ilaç kaynaklı nefrotoksisitenin belirgin özelliklerindedir. Bu nedenle, gentamisin kaynaklı nefrotoksisitenin en aza indirilmesine yönelik çalışmalar, daha çok antioksidan ajanları da içeren böbrek koruyucu ajanların eş zamanlı kullanımına dayanmaktadır. Histopatolojik düzeyde, önceki çalışmalar, gentamisin kaynaklı nefrotoksisitenin, tübüler nekroz, glomerüler mezangial hücre apoptozu, şişme, sitoz ve tübüler düzensizliklerle ilişkili tübüler dejenerasyon dahil hem glomerüler hem de tübüler değişiklikleri içerdiğini ortaya koymuştur (Alsharidah ve ark., 2021). Deneysel nefrotoksisite hayvan modelleri için bazı çalışma örnekleri Tablo 1' de sunulmuştur.

Tablo 1. Laboratuvar hayvanlarında nefrotoksisite modelleri.**Table 1.** Models of nephrotoxicity in laboratory animals.

Model	Patoloji	Deney Hayvanı	Amaç ve Yöntem	Kullanılan Parametreler	Kaynak	
1	<i>Sisplatin</i>	Proksimal tübül hasarı	Miox-NanoLuc transgenik fare	Sisplatin ile oluşturulan Akut Böbrek Hasarı'nda <i>Miox-NanoLuc</i> luminesans değerlerinin erken teşhisteki önemi	Kan üre nitrojen (BUN), Serum Kreatinin, Miox-NanoLuc luminesans	Chiou ve ark., 2020
		Hücrel dejenerasyon, Lökosit infiltrasyonu, Glomerüler atrofi, Konjesyon, Tübül dilatasyon	Wistar Rat	Sisplatin ile oluşturulan Akut Böbrek Hasarı'nda <i>Berberin</i> 'in koruyucu etkisi	Kan üre nitrojen (BUN) ve kreatinin (Cr) seviyeleri. Malondialdehit (MDA), glutasyon (GSH), protein karbonil (PC) ve nitrik oksit (NO) seviyeleri ile katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx) ve miyeloperoksidaz (MPO) aktiviteleri	Allameh ve ark., 2020
		İnterstitial nefrit, Kortikomedüller bölgede glomerüler konjesyon ve atrofi, Tübül epitelyal hücrelerde dökülme, Kortikal tübül dejenerasyon, İntertübül kanama, Proksimal tübüllerde; hidropik dejenerasyon, piknotik çekirdekler, sitoplazmik vakuolizasyon, tübül hücrelerin nekrozu ve apoptozu, tübül lümenleri dolduran nekrotik epitelyal hücrelerin deskuamasyonu	Evcil Tavşan (<i>Oryctolagus cuniculus domesticus</i>)	Sisplatin ile indüklenen böbrek hasarında sarımsak ekstresinin (<i>Allium sativum</i>) hafifletici etkisi	Kan üre nitrojen (BUN), Serum Kreatinin, Üre	Hassan ve ark., 2023
2	<i>Gentamisin</i>	Bowman kapsülünün büyümesi, Kapsül duvarının kalınlaşması, Renal tübüllerin dejenerasyonu, genişlemesi ve nekrozu İnflamatuvar hücre infiltrasyonu, Glomerüler dejenerasyon	Wistar Rat	Gentamisin ile oluşturulan akut böbrek hasarında <i>Oksimatin</i> 'in rahatlatıcı etkisi	N-asetil-beta-D-glukosaminidaz (NAG), Kan üre nitrojen (BUN), Serum kreatinin (sCRE), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD)	Kang ve ark., 2022
		Glomerüler Atrofi Tübül Tıkanıklık Proksimal Tübül Hasarı	Swiss Albino Fare	Gentamisin ile oluşturulan akut böbrek hasarında <i>Boerhaavia diffusa L.</i> 'nin rahatlatıcı etkisi	Üre, Ürik Asit, Kreatinin, Glutasyon S-Transferaz, Glutasyon peroksidaz, Glutasyon	Ramar ve ark., 2023
		Glomerüler endotel hücrelerde filtrasyon bariyeri hasarı	Sprague Dawley Rat (Erkek)	Gentamisin ile oluşturulan akut böbrek hasarının tedavisinde halihazırda kullanılan <i>Piperazin ferulat</i> 'ın etki mekanizmasının araştırılması	Kan Üre Nitrojen (BUN), Serum Kreatinin (sCRE), Böbrek Hasar Molekülü (KIM-1)	Li ve ark., 2022
3	<i>Folik asit</i>	Tübül dilatasyon, Döküntü oluşumu Tübül Obstrüksiyon	CD-1 Fare (Erkek)	Akut böbrek yetmezliği modelinde mitokondriyal homeostaz	Kan Üre Nitrojen (BUN), Serum Kreatinin (sCRE), İdrar Kreatinin (uCRE), İdrar Glukoz	Stallons ve ark., 2014
		Tübül epitelyal hasar Apoptoz	Wistar albino rat	Akut böbrek yetmezliğinin kalp fonksiyonu ve oksidatif stres belirteçleri üzerindeki etkisi	Kan Üre Nitrojen (BUN), Serum Kreatinin (sCRE)	Nikolic ve ark., 2020

Biyobelirteçler

Böbrek hastalıklarının teşhisi zordur. Hastalığın sebebi prerenal (hipovolemi gibi), intrinsik renal hastalık, (diyabetik nefropati) veya post-renal (benign prostat hiperplazi) olabilir. Bu sebeple, renal fonksiyonda bir bozukluk veya hasara işaret eden, çoğunlukla kan ve idrarda bulunan birçok farklı biyokimyasal belirteç kullanılmaktadır (Sluman ve ark., 2020).

Bu biyobelirteçlerden bazıları GFR belirlemek için kullanılır. GFR, belirli bir analitin birim zamanda temizlenen plazma hacmi olarak tanımlanır. GFR için en ideal biyobelirteç, vücut tarafından nispeten sabit bir hızda endojen olarak üretilen, glomerülde serbestçe filtre edilen, tübüller tarafından sekresyon, geri emilme ve ekstrarenal eliminasyona uğramayan bir özellikte olmalıdır (Treacy ve ark., 2019). Tahmini glomerüler filtrasyon oranı (eGFR), serum kreatinin değerini temel alan bir böbrek fonksiyon tahmini olup, klinik ve epidemiyolojik uygulamalarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Azalmış eGFR, böbrek hasarı sonucu veya sadece yaşlanmanın bir sonucu olarak, mevcut böbrek fonksiyonunun azaldığını da gösterebilir. Bu nedenle, mevcut böbrek hasrını tahmin etmek için bir dizi biyobelirteç geliştirilmiştir (Tanaka ve ark., 2022). Bu belirteçler, plazma veya serum örneğinde ölçülebilen, böbrek fonksiyonunu doğrudan gösteren veya böbrek fonksiyonuyla ilişkilendirilebilecek bir parametreyi tahmin etmek için bir formülde yer alabilecek sayısal bir değer sağlayan belirteçlerdir (Treacy ve ark., 2019).

Serum kreatinin ve üre

Serum kreatinin (Scr), böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir biyobelirteçtir. Kararlı bir durumda, serum kreatininini, çeşitli formüller vasıtasıyla GFR'nı tahmin etmek için kullanılır. Son yirmi yıl içinde, serum ve idrar kreatinin değerine dayalı ABH'nin tanısı ve yönetiminde önemli gelişmelere yol açmıştır. Aynı zamanda, Scr'ın çok sayıda hastalıkla ilişkili olduğu bilinmekte olup, özellikle akut, kararlı olmayan durumlarda ölçüm değerlerini etkileyebileceği düşünülmektedir (Kashani ve ark., 2020).

Sıçanlar, böbrek hastalıklarını incelemek için yaygın olarak kullanılan bir hayvan türüdür. Böbrek fonksiyonlarının izlenmesi, bu modellerin hayati bir parçasıdır ve GFR'nin en doğru ölçümü, eksojen filtrasyon belirteçlerinin infüzyonu yoluyla gerçekleştirilir. Kreatinin, üre veya her ikisinin plazma veya serum düzeyleri endojen filtrasyon belirteçleri olarak, genellikle GFR'nin yerine kullanılır. Ölçümleri

kolaydır ve seri ölçümler gerçekleştirilebilir. Ancak vücut kompozisyonu ve diyet gibi diğer faktörlerden etkilenebilirler. Bu iki madde de küçük bir plazma hacminde kolayca ölçülerek ardışık çoklu ölçümlere olanak tanır. İnsanlarda GFR'yi kreatininini kullanarak tahmin etmek için kullanılan Kronik Böbrek Hastalığı Epidemiyolojik İş birliği (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) denklemi gibi çeşitli formüller klinik uygulamalarda rutin kullanım bulmaktadır. Ancak, sıçanlar için böyle bir formül şu anda mevcut değildir. Altın standart GFR ölçümü için, inulin veya iohexol gibi dış kaynaklı filtrasyon belirteçlerinin infüzyonu gereklidir (Besseling ve ark., 2021).

BUN ve kreatinin rutin olarak böbrek hastalığı ve hasarı biyobelirteçleri olarak kullanılır. Her iki belirteç seviyesi de renal hasardan sonra önemli ölçüde artar. Ancak buna rağmen ilgili belirteçlerde duyarlılık ve/veya özgüllük eksikliği mevcuttur; bu nedenle, daha erken ve daha doğru tespit için yeni biyobelirteçlere ihtiyaç vardır (Togashi ve ark., 2012).

Simetrik dimetilarginin (SDMA)

SDMA ve böbrek fonksiyonu arasında yüksek korelasyon bulunmaktadır. SDMA bir metillenmiş argininamino asididir. SDMA böbrekler tarafından atılır. Simetrik dimetilarginin (SDMA), intrasellüler proteinlerden kaynaklanan ve post-translasyonel modifikasyon ve metilasyonun ardından proteolize uğrayan bir amino asittir. SDMA'nın küçük boyutu ve pozitif yükü, böbrek glomerülünde serbest filtrasyona izin verir ve renal atılımı en az %90'dır. Simetrik dimetilarginin, serum ve plazmada son derece stabildir ve lipid, hemoglobin veya bilirubin içeriğinden etkilenmez (Yerramilli ve ark., 2016). Ayrıca, SDMA seviyeleri yaş, diyet veya kas kütlelerinden de etkilenmez. SDMA'nın renal disfonksiyonu tespit duyarlılığı sCr'ye kıyasla daha yüksektir (Brans ve ark., 2021; Yerramilli ve ark., 2016). Glomerül tarafından serbestçe filtrelenen bir analit olarak SDMA'nın bu özellikleri göz önüne alındığında, bu, glomerüler filtrasyon ve böbrek fonksiyonunun potansiyel bir biyobelirteci olabilir. Üretiminin büyük bir kısmı renal yolla (>90%) gerçekleşir ve bu, glomerüler filtrasyon ve aktif salgı yoluyla sağlanır (Yerramilli ve ark., 2016).

Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (NGAL)

Klinik çalışmalardaki tutarsız ve bazen çelişkili bulgular, plazma ve idrar biyobelirteçlerinin farklı biyolojik özelliklerinden kaynaklanabilir. Böbreklerde meydana gelen hasar sonrasında, intrarenal NGAL ekspresyonu

özellikle distal tübüllerde artar, bu da NGAL'in idrarla atılmasıyla sonuçlanır. ABH' de NGAL plazma seviyesi de artış gösterir. NGAL glomerülerde serbestçe filtrelenir ve proksimal tübüller tarafından megalin bağımlı endositoz ile tekrar emilime maruz kalır. Üriner sistem enfeksiyonları sonucunda oluşan lökositüri de idrar NGAL seviyelerinde artışa neden olur (Schley ve ark., 2015).

N-asetil-β-D-glukozaminidaz (NAG)

N-asetil-β-D-glukozaminidaz (NAG), renal proksimal tübüler hücrelerde yaygın olarak bulunan bir lizozomal enzimdir (Kim ve ark., 2015; Lee ve ark., 2018). NAG, renal tübül epitelindeki glikoproteinlerin parçalanmasında rol oynar (Suliska ve ark., 2021). NAG'nin çeşitli böbrek hastalıklarında yükseldiği ve akut böbrek hasarının erken teşhisinde önemli bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Park ve ark., 2012). NAG, proksimal tübül hücreleri tahrip olduğunda lizozomlardan salınır; bu nedenle NAG, renal tübüllerde bulunur ve idrarla atılır, buna üriner N-asetil-β-D-glukozaminidaz (U-NAG) denir (Kim ve ark., 2015; Lee ve ark., 2018; Suliska ve ark., 2021). NAG'ın idrardaki konsantrasyonu normal koşullarda çok düşüktür, ancak renal tübüler disfonksiyon, proksimal tübüler epitel hücre hasarına yol açtığına salınımı ve idrar konsantrasyonu önemli ölçüde artar (Liu ve ark., 2021). İdrarda artmış NAG enzimatik aktivitesi, tübüler hasarın derecesiyle ilişkilendirilmiştir. U-NAG, erken renal tübüler hasar belirleyicisi olarak, mikroalbuminüri başlamadan önce değişiklik göstermesi sebebiyle albuminüriden daha duyarlı bir biyobelirteçtir (Li ve ark., 2021) NAG, glomerüler filtrasyonu aşamaz ve idrar konsantrasyonlarını yükseltir. Bu durum, böbrek hasarının erken tespiti olarak kullanılır. İn vivo çalışmalarla, NAG, serumda kreatinin ve üre kadar spesifik bir belirteç olduğu gösterilmiştir. NAG, hasar görmüş proksimal kıvrımlı tüp için özellikle belirgin bir böbrek belirteçidir. Gentamisin, uygulamasından 8 saat sonra yanıtı tetikleyebilir. Klinik çalışmalar ayrıca NAG'yi hafif tübüler hasarın erken belirteci olarak rapor etmiştir (Suliska ve ark., 2021). Bu bulgulara dayanarak, idrar NAG aktivitesinin belirgin bir böbrek hasarı ve proteinüri görülmeyen aktif böbrek yetmezliğinin teşhisinde kullanışlı olabileceği düşünülmektedir (Tanaka ve ark., 2022).

Referans aralıkları, laboratuvar göstergelerinin önemli bileşenleridir ve vücudun normal bir şekilde çalışıp çalışmadığını değerlendirmeyi sağlar. Eğer referans aralığı uygun şekilde temel alınmazsa, klinik müdahalede yanlış uygulamalar ortaya çıkabilir. İdrar NAG için referans aralıklarının belirlenmesine dair az sayıda araştırma bulunmaktadır. Çin'de yapılan bir çalışmada insanlarda NAG değeri için bir referans aralığı oluşturulmaya çalışıldığı

bildirilmiştir (Liu ve ark., 2021).

Sistatin C

Sistatin C, ayrıca sistatin 3 olarak da adlandırılan protein yapıda bir moleküldür. İnsan dokularında ve vücut sıvılarında yaygın bir dağılıma sahiptir. Böbrekler, sistatin c metabolizmasında önemli bir rol oynar. Biyokimyasal özellikleri nedeniyle, yüksek fizyolojik pH'da pozitif yüklüdür ve düşük bir moleküler ağırlığa sahiptir (13.3 kDa). Bu nedenle glomerulus tarafından serbestçe filtrelenir. Böbrekte filtrasyona uğrayan sistatin c, proksimal tübüllerden geri emilir. Burada lizozomal enzimler tarafından neredeyse tamamen parçalanır. Sonuç olarak, sistatin C serbest amino asitler halinde dolaşıma geri döner. Küçük ve önemsiz bir kısmı idrarda kaybolur (0.03-0.29 µg/mL) (Onopiuk ve ark., 2015).

Sistatin C başta seminal veziküller ve merkezi sinir sistemi olmak üzere neredeyse tüm omurgalı dokularda geniş bir şekilde dağılmıştır. Böbrek, sistatin C'nin önemli düzeylerini içerir ve genellikle korteksin proksimal tübülünde lokalizedir (Togashi ve ark., 2012). Sistatin C idrarla atılır. Bu sebeple idrarda Sistatin C analizi böbrek hasarı modellerinde glomerüler hasarı ve ardından proksimal tübül içine reabsorpsiyonun bozulmasını tespit etmek için kullanılmaktadır. Ancak diğer idrar biyobelirteçleri ile karşılaştırıldığında renal hasarın tespitine ilişkin yayınlanmış veriler oldukça azdır (Fernando ve ark., 2020; Togashi ve ark., 2012). Serum sistatin C seviyeleri yaş, cinsiyet, ırk veya kas kütlesi tarafından önemli ölçüde etkilenmez; bu nedenle GFR için ideal bir parametre olarak kabul edilir (Khusainova ve ark., 2023).

Togashi ve ark. (2012) tarafından yayınlanan bir çalışmada nefrotoksisite oluşturulan sıçanlarda sistatin C ve diğer biyobelirteçler karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada ABH'li farelerde idrar sistatin C, KIM-1 ve Glutasyon-S-transferaz gibi değerler plazma BUN ve kreatinin seviyelerindeki artışlardan daha önce tesbit olanağı sağladığı belirtilmiştir, bu da idrarda sistatin C'nin ABH'li farelerde nefrotoksisitenin erken tespiti için kullanışlı olduğunu göstermektedir.

Böbrek Hasarı Molekülü-1 (KIM-1)

KIM-1, bir transmembran glikoprotein olup, proksimal tübüler hücreler tarafından üretilir ve böbrek hasarı için erken, duyarlı ve özgül bir idrar biyobelirteci olarak kabul edilir (Brilland ve ark., 2023). KIM-1 hasarlı doku tarafından salgılanan bir moleküldür. Bu sebeple sağlıklı proksimal tübül hücrelerinde ölçülemez. İdrarda bulunması böbrek hasarı için son derece patognomiktir. KIM-1 ile ilgili ilk

çalışmalar 2002'de yayınlanmıştır. Burada akut tübüler nekroz tanısı konmuş hastaların böbrek biyopsi örneklerinde KIM-1'in belirgin bir şekilde arttığı ve klinik olarak belirgin ABH'ye sahip hastaların idrarında KIM-1 düzeylerinin çok yüksek olduğu belirtilmiştir (Yin ve Wang, 2016).

KIM-1 kardiyovasküler cerrahi geçiren çocuklarda böbrek hasarı için hassas bir belirteçtir. Liangos ve ark. (2007) klinik olarak belirlenmiş 201 ABH hastasında idrar KIM-1 ve başka bir biyobelirteç olan NAG ile karşılaştırmıştır. Bu çalışmada artmış idrar KIM-1 ve NAG düzeylerinin, hastalıkla ilişkili olduğu ve hastalık şiddeti ile değişiklik gösterdikleri belirtilmiştir. Birçok ön klinik çalışmada ve çeşitli toksinler de dahil olmak üzere birçok böbrek hasarına karşı KIM-1'in biyobelirteç olarak BUN ve kreatininden çok daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (Yin ve Wang, 2016).

Vaidya ve ark. (2010) KIM-1'in sıçan böbrek hasarı modellerinde SCr, BUN ve idrar NAG değerlerine göre daha doğru sonuçlar sağladığını belirtmiştir. Üriner KIM-1 ölçümleri, klinik öncesi ilaç denemelerinde insan nefrotoksitesinin hassas, spesifik ve doğru teşhis sağlar. Bu çalışmaya göre ayrıca, cisplatin, gentamisin ve vankomisin ile oluşturulan nefrotoksisite araştırmalarında ölçülen idrar KIM-1'inin, histopatoloji ile doğrulanmış vakalarda doğru pozitif sonuç oranı %88 iken; BUN, idrar NAG ve SCr değerlerinde doğru pozitif sonuç oranının sırasıyla %42, %42 ve %40 oranlarında olduğu belirtilmiştir.

Sonuç

Sonuç olarak, nefrotoksisite, ksenobiyotikler tarafından tetiklenen ve böbrek dokusunu ciddi şekilde etkileyebilen önemli bir sağlık sorunudur. Deneysel *in vivo* ve *in vitro* modeller, bu karmaşık süreçleri daha iyi anlamak, nefrotoksisiteyi önlemek ve tedavi yöntemleri geliştirmek adına önemli bir rol oynamaktadır. Bu modeller, proksimal tübüler hasar, tübüler tıkanıklık ve interstisyel nefrit gibi ilaç kaynaklı böbrek hasarı mekanizmalarını ve hastalığın patofizyolojisini incelemeye olanak tanımaktadır. Böbrek fonksiyonlarını izleyen biyokimyasal parametrelerin ve yeni biyobelirteçlerin kullanımı, nefrotoksisitenin erken tanısında önemli bir yer tutmaktadır. Laboratuvar hayvanları üzerindeki *in vivo* araştırmalar, hastalıkların patofizyolojisinin ve ilaçların böbrek üzerindeki toksik etkilerinin anlaşılmasında vazgeçilmez bir araç olarak öne çıkmaktadır. *In vivo* modeller, insan biyolojisine daha yakın bir modelleme sunmaları nedeniyle, gelecekteki araştırmalarda önemli bir rol oynamaya devam edecektir.

Yazar Katkıları: Fikir – HÖİ, AA; Tasarım - HÖİ; Süpervizyon - AA; Kaynaklar - HÖİ; Materyaller - HÖİ; Veri Toplama ve/veya İşleme - HÖİ; Analiz ve/veya Yorumlama - AA; Literatür Tarama - HÖİ; Makale Yazımı - HÖİ; Eleştirel İnceleme - AA; Diğer - AA, HÖİ

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız

Çıkar Çatışması: Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

Finansal Destek: Çalışma herhangi bir finansal destek almamıştır.

Author Contributions: Concept – HÖİ, AA; Design - HÖİ; Supervision - AA; Resources - HÖİ; Materials - HÖİ; Data Collection and/or Processing - HÖİ; Analysis and/or Interpretation - AA; Literature Search - HÖİ; Writing Manuscript - HÖİ; Critical Review - AA; Other – AA, HÖİ

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Declaration of Interests: The authors declare that they have no competing interest.

Funding: The study has not received any financial support.

Kaynaklar

- Allameh, H., Fatemi, I., Malayeri, A. R., Nesari, A., Mehrzadi, S., & Goudarzi, M. (2020). Pretreatment with berberine protects against cisplatin-induced renal injury in male Wistar rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 393, 1825-1833.
- Alsharidah M, Abdel-Moneim A-MH, Alsharidah AS, Mobark MA, Rahmani AH, Shata A, Abdellatif AAH, El-Readi MZ, Mohany KM, Al Rugaie O. (2021). Thymoquinone, but Not Metformin, Protects against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity and Renal Dysfunction in Rats. *Applied Sciences*; 11(9):3981.
- Balakumar, P., Rohilla, A., & Thangathirupathi, A. (2010). Gentamicin-induced nephrotoxicity: Do we have a promising therapeutic approach to blunt it?. *Pharmacological research*, 62(3), 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.04.004>
- Besseling, P. J., Pieters, T. T., Nguyen, I. T., de Bree, P. M., Willekes, N., Dijk, A. H., Bovée, D. M., Hoorn, E. J., Rookmaaker, M. B., Gerritsen, K. G., Verhaar, M. C., Gremmels, H. & Joles, J. A. (2021). A plasma creatinine- and urea-based equation to estimate glomerular filtration rate in rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 320(3), F518-F524.
- Brans, M., Daminet, S., Mortier, F., Duchateau, L., Lefebvre, H. P., & Paepe, D. (2021). Plasma symmetric dimethylarginine and creatinine concentrations and glomerular filtration rate in cats with normal and decreased renal function. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(1), 303-311.
- Brilland, B., Boud'hors, C., Wacrenier, S., Blanchard, S., Cayon, J., Blanchet, O., Piccoli, G. B., Henry, N., Djema, A., Coindre, J. P., Jeannin, P., Delneste, Y., Copin, M. C., & Augusto, J. F. (2023). Kidney injury molecule 1 (KIM-1): a potential biomarker of acute kidney injury and tubulointerstitial injury in patients with ANCA-glomerulonephritis. *Clinical Kidney Journal*, 16(9), 1521–

1533. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfad071>
- Chiou, Y. Y., Jiang, S. T., Ding, Y. S., & Cheng, Y. H. (2020). Kidney-based in vivo model for drug-induced nephrotoxicity testing. *Scientific Reports*, 10(1), 13640.
- De Angelis, M. H., Michel, D., Wagner, S., Becker, S., & Beckers, J. (2007). Chemical mutagenesis in mice. In *The mouse in biomedical research* (pp. 225-260). Academic Press.
- Delaney, M. A., Kowalewska, J., & Treuting, P. M. (2018). Urinary system. In *Comparative Anatomy and Histology* (pp. 275-301). Academic Press.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., & Posey, L. M. (2014). *Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach*, ed. Connecticut: Appleton and Lange, 4, 141-142.
- Doyle, A., McGarry, M. P., Lee, N. A., & Lee, J. J. (2012). The construction of transgenic and gene knockout/knockin mouse models of human disease. *Transgenic Research*, 21(2), 327–349. <https://doi.org/10.1007/s11248-011-9537-3>
- Erseckin, V., Mert, H., İrak, K., Yildirim, S., & Mert, N. (2022). Nephroprotective effect of ferulic acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in female rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(2), 663-669.
- Fernando, S., & Polkinghorne, K. R. (2020). Cystatin C: not just a marker of kidney function. *Brazilian Journal of Nephrology*, 42, 6-7.
- Goossens, J. F., Thuru, X., & Bailly, C. (2021). Properties and reactivity of the folic acid and folate photoproduct 6-formylpterin. *Free Radical Biology & Medicine*, 171, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.002>
- Hassan, O. Y., Khatal, A. A., Alagouri, I. I., Eljriby, L. R., Aljaghdaif, H. M., & Muftah, S. S. (2023). Study of the Histological and Histopathological Effects of Garlic Extract (*Allium sativum*) on Cisplatin-Induced Kidney Damage in Rabbits. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, 35(22), 134-152.
- Hau, J. (2008). Animal Models for Human Diseases. In: Conn, P.M. (eds) *Sourcebook of Models for Biomedical Research*. Humana Press.
- Huang, H., Jin, W. W., Huang, M., Ji, H., Capen, D. E., Xia, Y., Yuan, J., Păunescu, T. G. & Lu, H. A. J. (2020). Gentamicin-induced acute kidney injury in an animal model involves programmed necrosis of the collecting duct. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 31(9), 2097.
- Kang S, Chen T, Hao Z, Yang X, Wang M, Zhang Z, Hao S, Lang F, Hao H. (2022). Oxymatrine Alleviates Gentamicin-Induced Renal Injury in Rats. *Molecules*, 27(19):6209. <https://doi.org/10.3390/molecules27196209>
- Karadeniz, A., Yildirim, A., Simsek, N., Kalkan, Y., & Celebi, F. (2008). *Spirulina platensis* protects against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Phytotherapy research: PTR*, 22(11), 1506–1510. <https://doi.org/10.1002/ptr.2522>
- Kashani, K., Rosner, M. H., & Ostermann, M. (2020). Creatinine: From physiology to clinical application. *European journal of internal medicine*, 72, 9-14.
- Kaya, M. & Çevik, A. (2011). Hayvan deneylerinde planlanma ve model seçimi. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 1 (2), 36-39. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/iudtaed/issue/8971/111908>
- Khorrarnizadeh, M. R., & Saadat, F. (2020). Animal models for human disease. In *Animal Biotechnology* (pp. 153-171). Academic Press.
- Khusainova, M. A. (2023). Cystatin C is an early marker of decreased kidney function. *Oriental renaissance: Innovative, educational, natural and social sciences*, 3(1), 485-490.
- Kim, Y. D., Yim, D. H., Eom, S. Y., Moon, S. I., Park, C. H., Kim, G. B., Yu, S. D., Choi, B. S., Park, J. D., & Kim, H. (2015). Temporal changes in urinary levels of cadmium, N-acetyl-β-d-glucosaminidase and β2-microglobulin in individuals in a cadmium-contaminated area. *Environmental toxicology and pharmacology*, 39(1), 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.10.016>
- Le, X., & Hanna, E. Y. (2018). Optimal regimen of cisplatin in squamous cell carcinoma of head and neck yet to be determined. *Annals of translational medicine*, 6(11), 229.
- Lee, M. C., Cheng, K. J., Chen, S. M., Li, Y. C., Imai, K., Lee, C. M., & Lee, J. A. (2019). A novel preventive mechanism of gentamicin-induced nephrotoxicity by atorvastatin. *Biomedical Chromatography*, 33(11), e4639.
- Lee, M., Hong, N., Lee, Y. H., Kang, E. S., Cha, B. S., & Lee, B. W. (2018). Elevated N-acetyl-β-d-glucosaminidase, a urinary tubular damage marker, is a significant predictor of carotid artery atherosclerosis in type 1 diabetes, independent of albuminuria: A cross-sectional study. *Journal of diabetes and its complications*, 32(8), 777–783. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2018.05.019>
- Li, D., Li, B., Rui, Y., Xie, H., Zhang, X., Liu, R., & Zeng, N. (2022). Piperazine ferulate attenuates gentamicin-induced acute kidney injury via the NF-κB/NLRP3 pathway. *Phytomedicine*, 99, 154021.
- Li, Q. X., Jiang, X. Y., Wang, X., & Li, J. (2021). Protective Effects of Valsartan on Gentamicin Induced Tubular Injury through Down Regulation of Urinary N-Acetyl-B-D-Glucosaminidase in Rats. *Indian Journal of*

- Pharmaceutical Sciences*, 83(1).
- Liangos, O., Perianayagam, M. C., Vaidya, V. S., Han, W. K., Wald, R., Tighiouart, H., MacKinnon, R. W., Li, L., Balakrishnan, V. S., Pereira, B. J., Bonventre, J. V., & Jaber, B. L. (2007). Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 18(3), 904–912. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006030221>.
- Liu, Q., Zong, R., Li, H., Yin, X., Fu, M., Yao, L., Sun, J. & Yang, F. (2021). Distribution of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and the establishment of reference intervals in healthy adults. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 35(5), e23748.
- Maurer, K. J., & Quimby, F. W. (2015). Animal models in biomedical research. In *Laboratory animal medicine* (pp. 1497-1534). Academic Press.
- McSweeney, K. R., Gadanec, L. K., Qaradakh, T., Ali, B. A., Zulli, A., & Apostolopoulos, V. (2021). Mechanisms of cisplatin-induced acute kidney injury: pathological mechanisms, pharmacological interventions, and genetic mitigations. *Cancers*, 13(7), 1572.
- Mohammed-Ali, Z., Carlisle, R. E., Nademi, S., & Dickhout, J. G. (2017). Animal models of kidney disease. In *Animal Models for the Study of Human Disease* (pp. 379-417). Academic Press.
- Nikolic, T., Petrovic, D., Matic, S., Turnic, T. N., Jeremic, J., Radonjic, K., Srejovic, I., Zivkovic, V., Bolevich, S., Bolevich, S. & Jakovljevic, V. (2020). The influence of folic acid-induced acute kidney injury on cardiac function and redox status in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 393, 99-109.
- Onopiuk, A., Tokarzewicz, A., & Gorodkiewicz, E. (2015). Cystatin C: a kidney function biomarker. *Advances in clinical chemistry*, 68, 57-69.
- Park, H. C., Hwang, J. H., Kang, A. Y., Ro, H., Kim, M. G., An, J. N., In Park, J., Kim, S. H., Yang, J., Oh, Y. K., Oh, K. H., Noh, J. W., Cheong, H. I., Hwang, Y. H., & Ahn, C. (2012). Urinary N-acetyl-β-D glucosaminidase as a surrogate marker for renal function in autosomal dominant polycystic kidney disease: 1 year prospective cohort study. *BMC nephrology*, 13, 93. <https://doi.org/10.1186/1471-2369-13-93>
- Ramar, M., Ravi, S., Duraisamy, P., Krishnan, M., Martin, L. C., Kumaresan, M., Munusamy, A. & Manikandan, B. (2023). Gentamicin-induced acute nephrotoxicity counteraction using *Boerhaavia diffusa* in Swiss albino mice. *Comparative Clinical Pathology*, 1-13.
- Randjelovic, P., Veljkovic, S., Stojiljkovic, N., Sokolovic, D., & Ilic, I. (2017). Gentamicin nephrotoxicity in animals: Current knowledge and future perspectives. *EXCLI journal*, 16, 388.
- Schley, G., Köberle, C., Manuilova, E., Rutz, S., Forster, C., Weyand, M., Formentini, I., Klentsch-Engel, R., Eckardt, K., & Willam, C. (2015). Comparison of plasma and urine biomarker performance in acute kidney injury. *PloS one*, 10(12), e0145042.
- Sluman, C., Gudka, P. M., & McCormick, K. (2020). Acute Kidney Injury: Pre-renal, Intra-renal and Post-renal. *Renal Medicine and Clinical Pharmacy*, 23-44.
- Stallons, L. J., Whitaker, R. M., & Schnellmann, R. G. (2014). Suppressed mitochondrial biogenesis in folic acid-induced acute kidney injury and early fibrosis. *Toxicology letters*, 224(3), 326-332.
- Suliska, N., Kurniati, N. F., & Sukandar, E. Y. (2021). *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis and *Sonchus arvensis* L. inhibit gentamicin-induced nephrotoxicity: The role of urinary N-acetyl beta-D-glucosaminidase. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 10(2), 256-260.
- Tanaka, S. I., Fujioka, Y., Tsujino, T., Ishida, T., & Hirata, K. I. (2022). Association between urinary N-acetyl-β-glucosaminidase activity–urinary creatinine concentration ratio and risk of disability and all-cause mortality. *Plos one*, 17(3), e0265637.
- Togashi, Y., Sakaguchi, Y., Miyamoto, M., & Miyamoto, Y. (2012). Urinary cystatin C as a biomarker for acute kidney injury and its immunohistochemical localization in kidney in the CDDP-treated rats. *Experimental and toxicologic pathology*, 64(7-8), 797-805.
- Treacy, O., Brown, N. N., & Dimeski, G. (2019). Biochemical evaluation of kidney disease. *Translational andrology and urology*, 8(Suppl 2), S214.
- Vaidya, V. S., Ozer, J. S., Dieterle, F., Collings, F. B., Ramirez, V., Troth, S., Muniappa, N., Thudium, D., Gerhold, D., Holder, D. J., Bobadilla, N. A., Marrer, E., Perentes, E., Cordier, A., Vonderscher, J., Maurer, G., Goering, P. L., Sistare, F. D., & Bonventre, J. V. (2010). Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies. *Nature biotechnology*, 28(5), 478–485. <https://doi.org/10.1038/nbt.1623>
- Werner, M., Costa, M. J., Mitchell, L. G., & Nayar, R. (1995). Nephrotoxicity of xenobiotics. *Clinica Chimica Acta*, 237(1-2), 107-154.
- Wu, H., & Huang, J. (2018). Drug-induced nephrotoxicity: pathogenic mechanisms, biomarkers and prevention strategies. *Current drug metabolism*, 19(7), 559-567.
- Yan, L. J. (2021). Folic acid-induced animal model of kidney disease. *Animal models and experimental medicine*, 4(4), 329-342.

- Yerramilli, M., Farace, G., Quinn, J., & Yerramilli, M. (2016). Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury: The Role of Novel Biomarkers as Early and Accurate Diagnostics. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 46(6), 961–993. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.011>.
- Yin, C., & Wang, N. (2016). Kidney injury molecule-1 in kidney disease. *Renal failure*, 38(10), 1567-1573.
- Zaaba, N. E., Beegam, S., Elzaki, O., Yasin, J., Nemmar, B. M., Ali, B. H., Adeghate, E., & Nemmar, A. (2022). The Nephroprotective Effects of α -Bisabolol in Cisplatin-Induced Acute Kidney Injury in Mice. *Biomedicines*, 10(4),842. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10040842>.
- Zhang, W., Yang, Y., Gao, H., Zhang, Y., Jia, Z., & Huang, S. (2019). Inhibition of mitochondrial complex i aggravates folic acid-induced acute kidney injury. *Kidney and Blood Pressure Research*, 44(5), 1002-1013.