

## 급성 신손상의 동물 모형

장혜련

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 내과학교실

## Animal Models for Acute Kidney Injury

Hye Ryoun Jang, M.D.

Department of Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Acute kidney injury (AKI) is classified into three types according to its pathophysiology: prerenal, intrinsic renal, and post-renal AKI. Experimental models of AKI can be divided into two categories: in vivo and in vitro. Models can be further subdivided according to how AKI is simulated. The pathophysiology of intrinsic renal and post-renal AKI has been investigated using animal models. Most studies have been conducted in murine models using male mice or rats, while large mammals like sheep, pigs, and monkeys have been used in a limited number of studies. The intrinsic renal AKI model is divided into septic vs. aseptic AKI. Aseptic AKI is subdivided into ischemic vs. nephrotoxic AKI. Lipopolysaccharides (LPS) injection or cecal ligation and puncture (CLP) have been used to simulate the septic AKI model in rodents. Ischemic AKI is the most extensively investigated field to date because ischemic AKI is the most common and serious cause of AKI in both native kidneys and renal allografts. Ischemia-reperfusion injury (IRI) surgery has been used to induce ischemic AKI. There are two different methods of IRI surgery: laparotomy vs. flank approach. Warm temperature and male sex are critical to induction of sufficient grade of renal injury in this model. Many nephrotoxicants pertinent to human disease have been used to reproduce nephrotoxic AKI in rodent models. Cisplatin, a common chemotherapeutic agent, has many pathophysiologic features that overlap with IRI. Other nephrotoxicants such as gentamicin or glycerol were studied in the past, whereas much more attention has recently been devoted to environmental nephrotoxicants such as cadmium. However, variant susceptibility to different doses of nephrotoxicants is a big hurdle to set up a reproducible and consistent model of nephrotoxic AKI. Post-renal AKI is simulated with ureteral obstruction surgery, whereas the unilateral ureteral obstruction (UUO) model has frequently been used. Although some novel findings have been reported through numerous studies using murine AKI models, AKI still remains a challenging condition that lacks specific diagnostic or therapeutic tools because of species barriers or experimental settings. Animal AKI models using mammals genetically closer to human like monkeys would be valuable to simulate human AKI more appropriately.

**Key Words:** Acute kidney injury, Animal model**중심 단어:** 급성 신손상, 동물 모형

Received September 15, 2017

Accepted September 17, 2017

**Corresponding author:** Hye Ryoun Jang

Department of Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, 81 Irwon-ro, Gangnam-gu, Seoul 06351, Korea

Tel: 82-2-3410-0782, Fax: 82-2-3410-0064

E-mail: hyeryoun.jang@samsung.com

## 급성 신손상과 동물 모형 개요

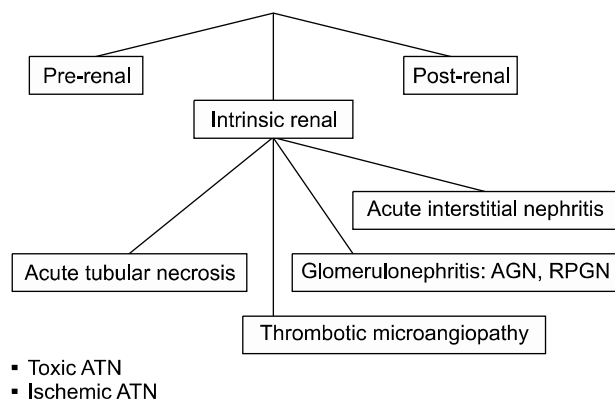
그 동안 연구되어 온 여러 가지 신질환에 대한 동물 모형 중에서 급성 신손상(acute kidney injury, AKI)은 임상적 중요성과 만성 신질환 동물 모형에 비해 신손상 유도 후 관찰 기간이 상대적으로 짧은 장점 등으로 인해 가장

활발히 연구된 분야이다(1,2).

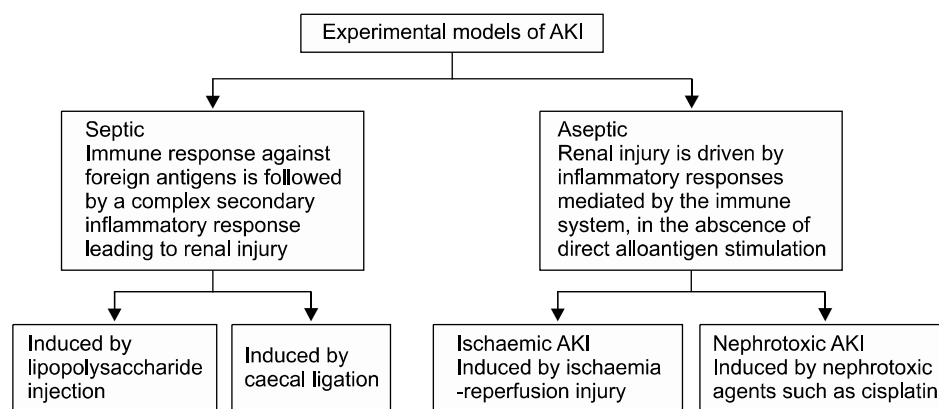
급성 신손상의 전통적인 분류 기준은 병태 생리를 바탕으로 하며, 크게 신전성(pre-renal), 신성(intrinsic renal), 신후성(post-renal) 급성 신손상으로 나뉜다(Fig. 1). 급성 신손상의 실험 모형(experimental model)은 크게 두 가지로 구분할 수 있는데, 신세관 세포(renal tubular cell) 배양 실험을 주축으로 하는 in vitro 모형과 동물에서 여러 가지 방법으로 급성 신손상을 직접 유도하는 in vivo 모형이다. In vivo 모형은 다시 septic AKI 모형과 aseptic AKI 모형으로 나뉘어진다(3). Aseptic AKI 모형에는 허혈성 급성 신손상 모형과 신독성 급성 신손상 모형이 속한다(Fig. 2).

### 허혈성 급성 신손상 동물 모형 (ischemic AKI animal model)

허혈성 급성 신손상은 다양한 포유 동물에서 실험이 진행되었는데, 생쥐(mouse)나 쥐(rat)를 이용하는 설치류 실험



**Fig. 1.** Classification of acute kidney injury. Abbreviations: ATN, acute tubular necrosis; AGN, acute glomerulonephritis; RPGN, rapidly progressive glomerulonephritis.



**Fig. 2.** Acute kidney injury (AKI) animal models. Adapted from Fig. 1 of reference [3].

혈이 가장 많았고, 그 밖에 돼지나 토끼, 양, 원숭이 등의 포유 동물에서도 실험이 이루어지고 있다. 허혈성 급성 신손상은 정상 신장(native kidney)와 이식 신장(renal allograft) 모두에서 신손상의 주요 원인을 차지하고, 이식 신장에서는 특히 이식신 기능지연(delayed graft function, DGF)의 원인이므로 최근 30여년간 매우 활발히 연구된 분야이다. 대부분의 주요 연구 결과가 설치류 실험으로 밝혀졌고, 허혈 방법에 따라 warm ischemia와 cold ischemia로 구분된다.

Warm ischemia는 실험 동물의 체온을 유지하는 상태에서 수술로 신장에 허혈을 유도하였다가 재관류 시키면서 신손상을 유도하는 것인데, 신문부(renal pedicle)를 결찰(clamping)하기 위해 노출하는 수술 방법의 차이에 따라 개복술(laparotomy)과 flank approach로 나뉜다. 설치류에서 개복술은 마취 후 배면을 면도하고 정중앙 절개(midline incision)로 개복한 후에 복막을 절개하고 장을 젖힌 후 양측 또는 편측 신문부를 결찰하였다가 일정한 허혈 유도 시간이 지난 후 신문부의 microvascular clip을 제거하여 허혈 신장을 재관류 시킨다. 설치류에서 flank approach 수술은 동물을 마취한 후에 엎드린 자세(prone position)로 두고 면도한 후 신장을 노출시켜 신문부를 결찰한다. 두 방법 모두 수컷 설치류에서 체온이 37°C 내외로 잘 유지되도록 하면서 수술하는 것이 중요하다. 개복술이 좀 더 침습적이기 때문에 같은 허혈 시간을 두었을 때 더 심한 신손상을 유발하는 경향이 있다. 양측 신문부를 결찰하는 양측 허혈-재관류 신손상(bilateral renal ischemia-reperfusion injury, IRI) 수술은 허혈성 급성 신손상의 초기 신손상기(injury phase)의 신손상 기전을 연구하는데 주로 쓰이고, 왼쪽 신문부만을 결찰하는 편측 허혈-재관류 신손상(unilateral 또는 left renal IRI) 수술은 회복기(recovery phase)의 신세관 재생(renal tubular regeneration)과 간질 섬유화

(interstitial fibrosis) 과정을 연구하는데 주로 쓰인다.

허혈성 급성 신손상의 설치류 모형 실험을 통해 신손상 기와 회복기에 중요한 역할을 하는 여러 가지 면역학적 요소가 자세히 보고되었다(3-5). 또한, 허혈성 급성 신손상에서 발생하는 타 장기(뇌, 심장, 폐, 간, 장, 골수 등)의 기능 이상도 주로 설치류 실험을 통해 밝혀졌다(6-9). 과거에는 주로 급성 신손상의 초기 신손상기에 관해 연구가 집중적으로 이루어졌지만, 최근 10여년 동안 급성 신손상의 회복기 및 급성 신손상으로부터 만성 신질환으로 진행되는 과정에 대한 관심이 높아지면서(10,11) 이에 관한 연구도 설치류 편측 허혈-재관류 신손상(unilateral renal ischemia-reperfusion injury) 모형을 이용하여 진행되었다(12).

Warm ischemia로 유도하는 설치류 허혈성 급성 신손상 모형의 주요 단점은 수컷 설치류만을 사용한다는 성별 제한과 신손상 정도가 실험 온도에 큰 영향을 받는다는 점이다.

Cold ischemia는 4°C의 장기 보관 용액(University of Wisconsin solution) 안에서 실험 동물 신장의 신문부를 결찰하는 방법으로 연구되는데, 주로 설치류가 실험에 사용된다.

### 독성 급성 신손상 동물 모형 (nephrotoxic AKI animal model)

여러 가지 약제나 독소가 독성 급성 신손상을 유발하는데, 동물 모형에 많이 사용되는 약제 또는 독소는 시스플라틴(cisplatin), 젠타마이신(gentamicin), 글리세롤(glycerol), 카드뮴(cadmium), 조영제(contrast dye), 엽산(folic acid), 광방기(aristolochic acid), 와파린(warfarin) 등이다.

이 중에서 시스플라틴은 광범위하게 쓰이고 있는 주요 항암제로서 독성 급성 신손상의 유발 약제로 많은 연구에 사용되었다(13,14). 고용량의 시스플라틴을 1~2회 주사하거나, 저용량의 시스플라틴을 반복적으로 주사하여 급성 신손상을 유도하는데 실험의 목적과 평가 지표에 따라 투여 용량과 일정이 다르며, 시스플라틴을 피하 주사하거나 복강 내 주사한다. 글리세롤은 황문근용해증에 의한 급성 신손상을 동물 모형에서 구현하는데 사용되었으며, 동물의 다리 근육에 글리세롤을 주사하고 24시간 동안 수분 섭취를 막는 방법으로 급성 신손상을 유도하였다(15). 다른 방법으로는 글리세롤 투여 전에 과당(sucrose)을 주사하거나 출혈을 유발하는 방법이 있다. 와파린으로 유도한 급성 신손상 모형에서는 흔히 혈뇨가 동반되며, 조직학적으로 적혈구 원주(erythrocytes casts)에 의한 신세관의 폐색과 유리된 헤모글로빈으로부터 산화 스트레스(oxidative

stress)가 증가되어 신손상이 유발되는 특징을 보인다. 이 모형은 5/6 신절제술을 시행한 쥐에서만 구현 가능한데 (1), 이는 만성 신질환 환자들에서 와파린에 의한 급성 신손상의 발생 위험성이 증가하는 임상적 특징에 잘 부합한다. 조영제 신독성도 설치류에서 조영제 투여가 신장에 끼치는 조직학적 및 기능적 변화에 대해 연구되었는데(16), 고령의 수컷 고혈압 쥐(spontaneously hypertensive rats, SHR)에 조영제를 투여하여 심신 증후군(cardiorenal syndrome) 환자에서 발생한 조영제 신독성(contrast-induced nephropathy, CIN)을 구현한 연구도 있다(17).

독성 급성 신손상은 임상적으로 연구 필요성이 높고 비교적 비침습적으로 유도 가능하며 실험 방법을 숙지하는데 걸리는 시간이 상대적으로 짧은 장점이 있다. 반면, 실험에 사용되는 약제가 환자들에게 투여되는 투약 일정과 다르고, 실제 임상적 상황을 구현하기 어려우며, 약제 또는 독소에 대한 실험 동물의 감수성 차이로 인해 개체간 급성 신손상의 중증도 차이가 상대적으로 크게 발생하는 재현성 문제가 있다.

### 패혈증에 의한 급성 신손상 동물 모형 (septic AKI animal model)

패혈증과 급성 신손상은 병태생리학적 상호작용을 보이는데, 패혈증으로 인해 신장 조직에서 염증과 산화 스트레스 증가 및 세포 자멸사 등이 초래되면서 급성 신손상이 발생하고 악화된다(18). 패혈증에 의한 급성 신손상을 설치류에서 유도하는 방법은 lipopolysaccharide (LPS)를 투여하거나 광범위한 복막염을 일으키는 수술적 방법이다(19). LPS는 E.coli, K. pneumoniae, P. aeruginosa, Salmonella enterica, Salmonella typhosa, Serratia marcescens 등의 세균으로부터 유래된 것을 주로 사용하며, 10~15 mg/kg 용량으로 1회 복강 내 투여하는데, 수컷 설치류를 사용하며 LPS의 종류와 동물의 종류에 따라 LPS의 투여 용량을 결정한다. 복막염을 유발하는 수술적 방법에는 맹장(cecum)을 결찰하였다가 천공시키는 방법(cecal ligation and puncture, CLP)과 상행 결장을 천공시키는 colon ascendens stent peritonitis (CASP) 방법이 있다. CLP 방법은 염증 반응과 혈액학적 불안정성을 모두 구현한다는 장점이 있지만, 더 복잡하고 재현성이 낮은 문제가 있다. 이러한 설치류 모형의 단점은 실험 동물의 신장 구조 및 기능적 측면과 면역 체계가 모두 인간과 다르다는 종 간의 차이이다. 설치류뿐만 아니라, 돼지와 같은 큰 포유동물에서도 패혈증에 의한 급성 신손상에 관한 연구가 진행되고 있다(20).

## 폐쇄성 급성 신손상 동물 모형 (post-renal or obstructive AKI model)

편측 요관만 결찰하는 unilateral ureteral obstruction (UUO) 모형에서는 요관 결찰 후 신세관내 압력이 상승하면서 신세관 허혈이 이차적으로 유도되어 신원 손상이 유발된다(1). UUO 모형에서는 신세관 압력 상승에 의한 mechanical stress와 염증 세포 침윤 및 섬유화가 진행되면서 신손상이 진행된다. 편측 요관만 결찰하므로 반대쪽 신장 기능이 유지되어 혈청 크레아티닌은 상승하지 않지만, UUO로 손상된 신장에서는 간질 염증(interstitial inflammation)과 신세관 세포 손상(tubular cell injury) 및 섬유화(fibrosis)와 같은 만성 신질환의 특징이 모두 나타난다. 따라서, UUO 모형은 요로 폐쇄 자체의 효과보다는 급성 신손상에서 만성 신질환으로 이행하는 병태생리 기전을 연구하는데 더 많이 쓰이고 있다.

### 급성 신손상 동물 모형에서 평가 척도

급성 신손상의 정도를 평가하는 척도는 크게 기능적 변화를 비교하는 방법과 신장 조직의 구조적 변화를 분석하는 방법으로 나뉜다. 급성 신손상의 동물 모형에서 기능적 평가는 혈중요소질소(blood urea nitrogen, BUN), 혈청 또는 혈장 크레아티닌(creatinine)과 시스타틴 C (cystatin C), 혈장 또는 요 neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) 및 kidney injury molecule-1 (KIM-1) 등을 측정하는 것이다. 설치류 급성 신손상 모형에서는 동물이 살아있는 상태에서 얻을 수 있는 혈액 검체량이 적으므로, 어떠한 기능

적 평가 항목을 측정할 것인지를 미리 결정하여 소량의 검체를 효율적으로 사용하여야 한다.

신장 조직의 구조적 변화는 조직을 여러 가지 방법으로 염색하여 평가하는데, H&E 염색이나 PAS 염색으로 신세관과 사구체의 손상 정도를 평가하고, Masson's trichrome 염색으로 섬유화 정도를 분석한다. 신장 조직 내 염증 세포의 침윤이나 특정 표지 인자의 발현은 면역조직화학염색(immunohistochemistry)이나 면역형광염색(immunofluorescence staining)으로 평가한다.

그 밖에도 신장 조직 내에 침윤한 염증 세포를 유세포 분석기법(flow cytometry analysis of kidney mononuclear cells)으로 분석할 수 있으며(21), 신장 조직 내 여러 가지 사이토카인이나 케모카인을 multiplex assay 또는 real-time PCR 기법으로 분석할 수 있다.

### 급성 신손상 동물 모형의 특징과 한계점

급성 신손상 동물 모형은 설치류 실험에서 가장 많이 구현되었는데, 설치류 급성 신손상 모형에는 주로 수컷 설치류가 사용된다. 암컷 설치류에서는 같은 실험 방법으로 급성 신손상이 잘 유도되지 않기 때문인데, 반면 전신성 홍반성 낭창에 의한 신염(lupus nephritis) 모형은 암컷 설치류를 사용한다. 이처럼 신장 질환의 종류에 따라 특정 성별의 동물을 사용해야 하는 점은 동물 모형의 특징인 동시에 한계점이기도 하다. 환자 대상 연구에서 aminoglycoside의 신독성에 의한 독성 급성 신손상이 여성에서 더 호발한다는 보고가 다수 있었지만, 메타 분석에 의하면 여성 성별이 독립적인 위험 인자는 아닌 것으로 보고되었다(22).

**Table 1.** Difference in renal anatomy and function: rodent vs. human

		Rodent	Human
Anatomy	Papilla	One	Multiple
	Nephron per kidney	14,000 in mice 22,000~25,000 in rats	200,000 to 1.8 (up to 2.7) million
	Glomerulus diameter	70 $\mu$ m in mice	200 $\mu$ m
	PTEC	Vacuolated in male mice	
	Distal tubule	Brush border (+) in mice	Brush border (-)
	Outer stripe of OM	Much more developed	
	Loop of Henle	Higher ratio of long loop of Henle (1/3)	Lower ratio of long loop of Henle (1/7)
Function	Concentration	Higher: 4,000 mOsm/kg	1200 mOsm/kg
	Proteinuria	0.6~3.1 mg/day in mice 2~15 mg/day in rats → only in males age dependent increase	<150 mg/day: mainly uromodulin (Tamm-Horsfall protein)

Abbreviations: PTEC, proximal tubular epithelial cells; OM, outer medulla.

설치류 급성 신손상 동물 모형 실험에는 주로 8~12주령 정도의 수컷을 사용하는데, 실제 임상에서는 고령의 환자들에서 급성 신손상의 발생률이 증가하므로 이 점 역시 동물 실험의 결과를 일반화하는데 걸림돌로 작용한다. 특정 면역학적 요소를 결손 시키거나 과발현 시키는 방향으로 유전학적인 조작이 가해진 동물(대부분 설치류) 실험을 통해, 급성 신손상 연구 분야(특히 허혈성 급성 신손상의 병태생리 분야)에서 큰 발전이 이루어졌다. 그러나, 특정 면역학적 요소의 유전학적 조작을 통해 신손상을 악화시키거나 완화시키는 병태생리학적인 역할이 알려진 면역학적 요소를 실제 임상에 적용하였을 때 기대한 결과를 얻지 못한 경우가 대부분인데(23), 이는 동물 실험에서 손상된 신장 조직 내부에서 일어나는 변화의 유기적인 관계를 전체적으로 파악하지 못하고 특정 요소에만 지나치게 집중하였기 때문일 수 있다. 또한, 동물과 인간 사이에 신장의 해부학적 및 기능적 차이가 있기 때문일 가능성도 높다. 실제로 급성 신손상 연구에 가장 많이 쓰인 동물인 설치류와 인간은 신장의 구조적 측면과 기능적 측면 모두에서 여러 가지 차이를 보인다. Table 1에서 정리된 바와 같이 설치류 신장의 유두(papilla)는 하나이지만, 인간 신장에는 여러 개의 유두가 존재한다. 신원의 수와 사구체의 크기는 당연히 큰 차이를 보이며, 설치류 신장에는 길이가 긴 헨레 고리(loop of Henle)가 상대적으로 더 많다. 따라서, 설치류의 요 농축 능력이 4,000 mOsm/kg로 인간의 1,200 mOsm/kg보다 훨씬 더 높다.

## 급성 신손상의 기타 모형

급성 신손상에 대한 연구가 활발하게 이루어지면서 원숭이와 같은 영장류에서도 급성 신손상 연구가 진행되고 있지만, 고가의 실험 비용과 사육 및 관리 문제, 윤리적인 문제 등으로 인해 큰 제약이 있다. Zebrafish는 포유류처럼 발달된 신장을 가지지 못했지만 재생 능력이 뛰어난 mesonephros를 가지고 있어서, 신원의 재생(neonephrogenesis)을 연구하는 분야에서 유용하게 쓰이고 있다(24). 그 밖에도 조직 공학적으로 신질환 모형을 연구하거나(25), 줄기세포를 활용하는 연구도 진행되고 있다.

## 결론

급성 신손상의 동물 모형 실험을 통해 급성 신손상의 병태생리 분야에서 큰 발전이 이루어졌는데, 최근 수 십년간 가장 많이 연구된 분야인 허혈성 급성 신손상에서는

유전적으로 조작된 생쥐를 적절히 활용하여 병태생리의 많은 부분이 알려지게 되었다. 설치류 실험의 한계를 극복하고자 토끼나 돼지, 양, 원숭이 등 대형 포유 동물도 실험에 이용되고 있지만, 동물 관리와 자원 및 윤리적인 문제 등으로 인해 연구에 제한이 있다. 급성 신손상은 조기 진단 및 치료가 아직 어려운 분야이므로, 동물의 성별과 연령을 고려하고 적절한 실험 방법을 미리 잘 계획하여 체계적인 실험을 진행함으로써 학문적 및 의료기술적으로 이 분야를 더욱 발전시켜야 할 것이다.

## REFERENCES

- 1) Ortiz A, Sanchez-Nino MD, Izquierdo MC, Martin-Cleary C, Garcia-Bermejo L, Moreno JA, et al. Translational value of animal models of kidney failure. *Eur J Pharmacol* 2015;759:205-20.
- 2) Skrypnik NI, Siskind LJ, Faubel S, de Caestecker MP. Bridging translation for acute kidney injury with better pre-clinical modeling of human disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2016;310:F972-84.
- 3) Jang HR, Rabb H. Immune cells in experimental acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol* 2015;11:88-101.
- 4) Jang HR, Rabb H. The innate immune response in ischemic acute kidney injury. *Clin Immunol* 2009;130:41-50.
- 5) Jang HR, Ko GJ, Wasowska BA, Rabb H. The interaction between ischemia-reperfusion and immune responses in the kidney. *J Mol Med (Berl)* 2009;87:859-64.
- 6) Scheel PJ, Liu M, Rabb H. Uremic lung: new insights into a forgotten condition. *Kidney Int* 2008;74:849-51.
- 7) Faubel S, Edelstein CL. Mechanisms and mediators of lung injury after acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol* 2016;12:48-60.
- 8) Liu M, Liang Y, Chigurupati S, Lathia JD, Pletnikov M, Sun Z, et al. Acute kidney injury leads to inflammation and functional changes in the brain. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:1360-70.
- 9) Grams ME, Rabb H. The distant organ effects of acute kidney injury. *Kidney Int* 2012;81:942-8.
- 10) Zager RA. Progression from acute kidney injury to chronic kidney disease: clinical and experimental insights and queries. *Nephron Clin Pract* 2014;127:46-50.
- 11) Chawla LS, Eggers PW, Star RA, Kimmel PL. Acute kidney injury and chronic kidney disease as interconnected syndromes. *N Engl J Med* 2014;371:58-66.
- 12) Jang HR, Gandolfo MT, Ko GJ, Satpute SR, Racusen L, Rabb H. B cells limit repair after ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:654-65.
- 13) Liu M, Chien CC, Burne-Taney M, Molls RR, Racusen LC,

- Colvin RB, et al. A pathophysiologic role for T lymphocytes in murine acute cisplatin nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:765-74.
- 14) Park JH, Jang HR, Kim DH, Kwon GY, Lee JE, Huh W, et al. Early, but not late treatment with human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells attenuates cisplatin nephrotoxicity through immunomodulation. *Am J Physiol Renal Physiol* [in press 2017 Mar 29].
- 15) Zurovsky Y. Models of glycerol-induced acute renal failure in rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 1993;4:213-28.
- 16) Kiss N, Hamar P. Histopathological evaluation of contrast-induced acute kidney injury rodent models. *Biomed Res Int* 2016;2016:3763250.
- 17) Zhang J, Fallahzadeh MK, McCullough PA. Aging male spontaneously hypertensive rat as an animal model for the evaluation of the interplay between contrast-induced acute kidney injury and cardiorenal syndrome in humans. *Cardiorenal Med* 2016;7:1-10.
- 18) Alobaidi R, Basu RK, Goldstein SL, Bagshaw SM. Sepsis-associated acute kidney injury. *Semin Nephrol* 2015;35:2-11.
- 19) Buras JA, Holzmann B, Sitkovsky M. Animal models of sepsis: setting the stage. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 854-65.
- 20) Chvojka J, Sykora R, Krouzecky A, Radej J, Varnerova V, Karvunidis T, et al. Renal haemodynamic, microcirculatory, metabolic and histopathological responses to peritonitis-induced septic shock in pigs. *Crit Care* 2008;12:R164.
- 21) Ascon DB, Lopez-Briones S, Liu M, Ascon M, Savransky V, Colvin RB, et al. Phenotypic and functional characterization of kidney-infiltrating lymphocytes in renal ischemia reperfusion injury. *J Immunol* 2006;177:3380-7.
- 22) Neugarten J, Golestaneh L. The effect of gender on aminoglycoside-associated nephrotoxicity. *Clin Nephrol* 2016; 86:183-9.
- 23) Salmela K, Wramner L, Ekberg H, Hauser I, Bentsdal O, Lins LE, et al. A randomized multicenter trial of the anti-ICAM-1 monoclonal antibody (enlimomab) for the prevention of acute rejection and delayed onset of graft function in cadaveric renal transplantation: a report of the European Anti-ICAM-1 Renal Transplant Study Group. *Transplantation* 1999;67:729-36.
- 24) McKee RA, Wingert RA. Zebrafish renal pathology: emerging models of acute kidney injury. *Curr Pathobiol Rep* 2015;3:171-81.
- 25) Desrochers TM, Palma E, Kaplan DL. Tissue-engineered kidney disease models. *Adv Drug Deliv Rev* 2014;69-70: 67-80.