



JOHANNES GUTENBERG
UNIVERSITÄT MAINZ



UNIVERSITÄTS**medizin.**

MAINZ

**Pathophysiologische Relevanz des B-Zellen-Aktivierungsfaktors (BAFF)
sowie des BAFF-Rezeptors (BAFF-R) in der akuten wie chronischen Phase
einer Nierenschädigung**

Dissertation

zur Erlangung des Grades

›Doktor der Naturwissenschaften‹

am Fachbereich 10 – Biologie

der Johannes Gutenberg-Universität

in Mainz

D77 – Dissertation der Universität Mainz

vorgelegt von

Tamara Möckel

geb. am [REDACTED] in [REDACTED]

Mainz, den 25. Oktober 2024

D77 – Dissertation der Universität Mainz

Dekan: Prof. Dr. Eckhard Thines

Erster Berichterstatter: Prof. Dr. med. Andreas Schwarting

Zweiter Berichterstatter: Dr. habil. Michael Schaffeld

Tag der mündlichen Prüfung: 24. April 2025

Meinem Partner

*Nicht die schönsten Momente sind es,
Auch nicht die größten Erfolge.
In den dunkelsten Tälern entscheidet sich,
Letztlich gemeinsam eins
Und beständig zu sein.*

∞

Vorwort

Die vorliegende, kumulative Dissertation wurde im Rahmen meiner Promotion in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Andreas Schwarting (FB 04), unter Mitbetreuung von Prof. Dr. Bernhard Lieb (FB 10), im Schwerpunkt ›Rheumatologie und Klinische Immunologie‹ der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz angefertigt und am Fachbereich 10 – Biologie der Johannes Gutenberg-Universität Mainz zur Erlangung des Grades ›Doktor der Naturwissenschaften‹ (Dr. rer. nat.) vorgelegt.

Der Fokus meiner Forschungstätigkeit lag auf der Untersuchung der Relevanz des B-Zellen-Aktivierungsfaktors (BAFF) und dessen Rezeptor BAFF-R in zwei unterschiedlichen Nierenschädigungsmodellen. Die Entwicklung ursächlicher Therapieansätze, die direkt auf das Entstehen und Voranschreiten einer Nierenschädigung in Form einer Fibrose abzielen, ist von großem Interesse, da die Nierenfibrose einen wesentlichen Faktor für den Funktionsverlust der Nieren darstellt und folglich maßgeblich Mortalität wie Morbidität von Nierenerkrankungen beeinflusst. Dabei spielt es keine Rolle, ob es sich um akute oder chronische Nierenschädigungen handelt und ob die Erkrankung durch einen schädigenden, ischämischen Reiz oder eine zugrundeliegende autoinflammatorische Dysregulation hervorgerufen wurde.

Im Modell der Ischämie/Reperfusion (I/R) wurde der Effekt des Cytokins BAFF und seine Interaktion mit dem BAFF-R während der akuten Phase einer Nierenschädigung untersucht. Dahingegen wurde dies im Modell der Nephrotoxischen Serum Nephritis (NTN) in der chronischen Phase betrachtet. Bis zur Veröffentlichung meiner Forschungsarbeiten waren keine Studien bekannt, die das BAFF/BAFF-R-System in murinen Nieren unter Verwendung dieser beiden Modelle untersucht hatten. Anstatt bereits bekannte, bei Nierenschädigung hochregulierte Gene zu untersuchen, wurde im Rahmen dieser Arbeit eine vollständige Untersuchung aller hoch- wie runterregulierter Gene mithilfe der Hochdurchsatz-RNA-Sequenzierungs-Technologie durchgeführt.

Beide Modelle wurden in autoimmunologisch nicht prädisponierten Mausstämmen untersucht. Die funktionellen Rollen von BAFF und des BAFF-R während der Entstehung und bei Vorliegen einer renalen Fibrose konnten auf diese Weise ohne Beeinflussung eines autoimmunologischen Hintergrunds abgebildet werden. Die durchgeführten Studien wurden vom Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz genehmigt (AktENZEICHEN 23 177-07/G 18-1-024, 23 177-07/G 18-1-024 E1, 23 177-07/G 18-1-024 E2Ä) und sind im Einklang mit der EU-Direktive 2010/63/EU sowie dem Deutschen Tierschutzgesetz.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen wurden bereits publiziert und sind die Grundlage für das Promotionsvorhaben. Bei beiden Publikationen bin ich alleinige Erstautorin. Die Daten werden von keiner anderen Person in einer anderen wissenschaftlichen Arbeit verwendet.

[REDACTED]

Tamara Möckel

[REDACTED], 21. September 2024

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis	5
2	Abbildungsverzeichnis	8
3	Tabellenverzeichnis	9
4	Einleitung	11
4.1	Die Nieren	11
4.2	Akute Nierenschädigung (AKI).....	12
4.3	Chronische Nierenerkrankung (CKD).....	15
4.4	Tubulus-Epithelzellen (TEZ).....	16
4.5	B-Zellen-Aktivierungsfaktor (BAFF).....	17
4.6	Nierenschädigungsmodelle	19
4.6.1	Ischämie/Reperfusion (I/R)	19
4.6.2	Nephrotoxische Serum Nephritis (NTN).....	20
4.7	Zielsetzung der Arbeit	21
5	Publikationen	23
5.1	<i>Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice</i>	23
5.1.1	Artikel	24
5.1.2	Erklärung zum Eigenanteil der Promovendin	45
5.2	<i>Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis</i>	46
5.2.1	Artikel	47
5.2.2	Erklärung zum Eigenanteil der Promovendin	64
6	Synopse und Diskussion	66
6.1	Genregulation in den Nierenschädigungsmodellen.....	66
6.1.1	Renale Genregulation im I/R-Modell	66
6.1.2	Renale Genregulation im NTN-Modell	68
6.2	Expressionsmuster in Bezug auf BAFF ko und BAFF-R ko	69
6.2.1	Expressionsmuster im I/R-Modell	69
6.2.2	Expressionsmuster im NTN-Modell.....	74
6.3	Relevanz des BAFF/BAFF-R-Signalweges.....	79
6.3.1	BAFF/BAFF-R-Signalweg im I/R-Modell	79
6.3.2	BAFF/BAFF-R Signalweg im NTN-Modell.....	80
6.4	Limitationen der Untersuchungen	81

7	Schlussfolgerung	86
8	Zusammenfassung	87
8.1	Deutsche Fassung.....	87
8.2	Englische Fassung	88
9	Literaturverzeichnis	90
9.1	Referenzen der vorliegenden Arbeit	90
9.2	Referenzen der Publikation <i>Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice</i>	101
9.3	Referenzen der Publikation <i>Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis</i>	108
10	Anhang	117
10.1	<i>Supplement zur Publikation Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice</i>	117
10.2	<i>Supplement der Publikation Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis</i>	120
10.3	Publikationslizenzen.....	120
10.4	Repositorium	125
11	Danksagung	126
12	Eidesstattliche Versicherung	129
13	Lebenslauf	131

1 Abkürzungsverzeichnis

3R	<i>Replace, Reduce, Refine</i> ; Vermeiden, Verringern, Verbessern
AKD	<i>acute kidney disease</i> , akute Nierenerkrankung
AKI	<i>acute kidney injury</i> , akute Nierenschädigung
ARF	<i>acute renal failure</i> , akutes Nierenversagen
ASK1	<i>apoptosis signal-regulating kinase 1</i> , Apoptose-Signal-regulierende Kinase 1
BAFF	<i>B cell activating factor belonging to the TNF family</i> , B-Zellen-Aktivierungsfaktor
BAFF-R	BAFF-Rezeptor
BCMA	<i>B cell maturation antigen</i> , B-Zellen-Reifungs-Antigen
C3	<i>complement component 3</i> , Komplementfaktor 3
Ccn2	<i>Cellular Communication Network Factor 2</i> , zellulärer Kommunikations-Netzwerk-Faktor 2
Cd44	<i>CD44 antigen</i> , CD44(-Antigen)
CHOP	<i>C/EBP-homologous protein</i> , C/EBP homologes Protein
CKD	<i>chronic kidney disease</i> , chronische Nierenerkrankung
CMML	Chronische myelomonozytäre Leukämie
Col3a1	<i>Collagen Type III Alpha 1</i> , Kollagen Typ III Alpha 1
CsA	Cyclosporin A
DN	diabetische Nephropathie
ECM	<i>extracellular matrix</i> , extrazelluläre Matrix
eGFR	<i>estimated glomerular filtration rate</i> , geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
ESRD	<i>end stage renal disease</i> , terminales Nierenversagen
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FGF23	<i>fibroblast growth factor 23</i> , Fibroblasten-Wachstumsfaktor 23
Fn1	<i>Fibronectin 1</i> , Fibronektin 1
Fn14	<i>Fibroblast growth factor-inducible 14</i> , induzierbarer Fibroblasten-Wachstumsfaktor 14
FSGS	fokal-segmentale Glomerulosklerose
GBM	glomeruläre Basalmembran
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GN	Glomerulonephritis
Gpx3	<i>Glutathione Peroxidase 3</i> , Glutathion-Peroxidase 3
Havcr1	<i>Hepatitis A virus cellular receptor 1</i> , zellulärer Rezeptor 1 des Hepatitis-A-Virus
I/R	Ischämie/Reperfusion
Ig	Immunglobulin
IgA	Immunglobulin A
Igfbp7	<i>Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 7</i> , Bindungsprotein 7 des insulinähnlichen Wachstumsfaktors

IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IL	Interleukin
Il1rn	<i>Interleukin-1 receptor antagonist</i> , Interleukin-1-Rezeptor-Antagonist
Kap	<i>Kidney androgen regulated protein</i> , androgen-reguliertes Protein der Niere
KDIGO	<i>Kidney Disease: Improving Global Outcomes</i>
KG	Körpergewicht
KIM-1	<i>Kidney Injury Molecule-1</i> , Nierenschädigungs-Molekül 1
Kl	<i>Klotho</i> , Klotho
ko	Knockout
Lcn2	<i>Lipocalin-2</i> , Lipocalin 2
LN	Lupus Nephritis
Lyz	<i>Lysozyme</i> , Lysozym
Lyz2	<i>Lysozyme 2</i> , Lysozym 2
mAb	<i>monoclonal antibody</i> , monoklonaler Antikörper
MN	membranöse Nephropathie
MRM	<i>multiple reaction monitoring</i>
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i> , Boten-Ribonukleinsäure
MS	<i>mass spectrometry</i> , Massenspektrometrie
MTA	Medizinisch-Technische Assistentin
NF-κB	<i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NGAL	<i>Neutrophil gelatinase-associated lipocalin</i> , Neutrophilen-Gelatinase-assoziiertes Lipocalin
NLRP3	<i>NLR family pyrin domain containing 3</i> , Pyrin-Domäne enthaltendes Protein 3 der NLR-Familie
NS	nephrotisches Syndrom
NTN	<i>nephrotoxic serum nephritis</i> , Nephrotoxische Serum Nephritis
NTS	Nephrotoxisches Serum
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> , Hauptkomponentenanalyse
Ren1	<i>Renin</i> , Renin
RIFLE	<i>Risk, Injury, Failure, Loss, End stage renal disease</i> ; Risiko, Schädigung, Versagen, Verlust, terminales Nierenversagen
RNA	<i>ribonucleic acid</i> , Ribonukleinsäure
ROS	<i>reactive oxygen species</i> , reaktive Sauerstoffspezies
SCr	<i>serum creatinine</i> , Serumkreatinin
sEVs	<i>small extracellular vesicles</i> , kleine extrazelluläre Vesikel
SLE	Systemischer Lupus Erythematoses
SNP	<i>single nucleotide polymorphism</i> , Einzelnukleotid-Polymorphismus
STAT3	<i>Signal transducer and activator of transcription 3</i> , Signaltransduktor und Aktivator der Transkription 3

TACI	<i>transmembrane activator and calcium-modulating cyclophilin ligand (CAML) interactor</i> , transmembraner Aktivator und Calcium regulierender Cyclophilin-Ligand (CAML) Interakteur
TARC	<i>Translational Animal Research Center</i>
TEC(s)	<i>renal tubular epithelial cell(s)</i>
TEZ	Tubulus-Epithelzellen
Timp-2	<i>Tissue inhibitor of metalloproteinases 2</i> , Gewebeinhibitor der Matrix-Metalloproteinase 2
TLS	<i>tertiary lymphoid structures</i> , tertiäre lymphoide Strukturen
TNF	Tumornekrosefaktor
Tnfrsf	<i>Tumor necrosis factor receptor superfamily member</i> , TNF-Rezeptor-Superfamilie
Tnfsf	<i>Tumor necrosis factor superfamily member</i> , TNF-Superfamilie
TPM	<i>transcripts per million</i> , Transkripte pro Million
TRAF	<i>TNF receptor associated factor</i> , TNF-Rezeptor-assoziiierter Faktor
TWEAK	<i>TNF-related weak inducer of apoptosis</i> , TNF-zugehöriger schwacher Induktor der Apoptose
Txnip	<i>Thioredoxin Interacting Protein</i> , Thioredoxin-Interagierendes-Protein
Umod	<i>Uromodulin</i> , Uromodulin
UUO	unilaterale Ureter-Obstruktion
wt	Wildtyp

2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1. Schematische Darstellung von Niere und Nephron. *Created in [BioRender](#). Möckel, T. (2024) [BioRender.com/f06c768](#). Adapted from “Kidney Anatomy”. Retrieved from <https://app.biorender.com/biorender-templates>.* 11

3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1. Einteilung der akuten Nierenschädigung nach Schweregrad.	14
Tab. 2. Expressionsmuster differenziell exprimierter Gene im I/R-Modell in Bezug auf den BAFF- und BAFF-R-Knockout.	70
Tab. 3. Expressionsmuster differenziell exprimierter Gene im NTN-Modell in Bezug auf den BAFF- und BAFF-R-Knockout.	75

4 Einleitung

4.1 Die Nieren

Die Nieren sind ein paarig angelegtes, endokrines Organ und für die Bildung des Endharns (Sekundärharn) und die Ausscheidung von Stoffwechselprodukten zuständig. Dabei regulieren sie den Wasser- und Elektrolythaushalt sowie das Säure-Basen-Gleichgewicht. Im Rahmen ihrer endokrinen Funktion regulieren sie den Blutdruck, sind an der Erythropoese und am Vitamin-D-Stoffwechsel beteiligt.

Die äußere Hülle der Nieren, die sogenannte ›Nierenkapsel‹, umgibt das Nierenparenchym. Im schematischen Längsschnitt der Niere (siehe **Abb. 1 A)**) ist zu erkennen, dass das Nierenparenchym in die Nierenrinde, die *Cortex renalis* und das Nierenmark, die *Medulla renalis*, untergliedert ist.

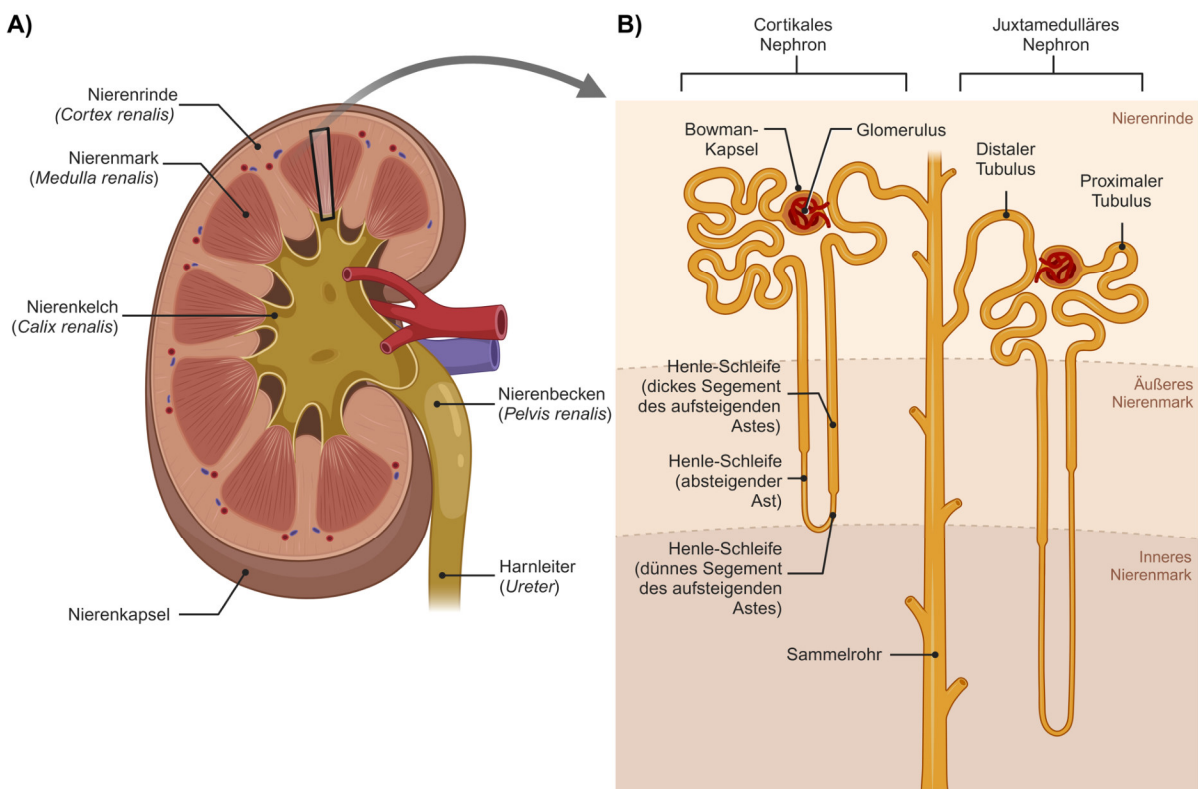


Abb. 1. Schematische Darstellung von Niere und Nephron. A) Schematischer Längsschnitt einer Niere. B) Schematische Darstellung der Funktionseinheit einer Niere, den Nephronen. Created in *BioRender*. Möckel, T. (2024) *BioRender.com/f06c768*. Adapted from “Kidney Anatomy”. Retrieved from <https://app.biorender.com/biorender-templates>.

Das Nierenmark weist eine pyramidenförmige Struktur auf und wird somit auch als ›Nierenpyramide‹ bezeichnet. Die Nierenpyramiden ragen in die Nierenkelche, deren Gesamtheit das Nierenbecken bilden. Die Funktionseinheit einer Niere ist das Nephron und besteht aus dem Nierenkörperchen und dem Nierenkanälchen, auch ›Nierentubulus‹ genannt (siehe **Abb. 1 B**), S. 11). Das Nierenkörperchen besteht aus einem kapillaren Gefäßknäuel, dem sogenannten ›Glomerulus‹ und der Bowman-Kapsel. Es folgt der Nierentubulus, der sich in den proximalen und distalen Abschnitt untergliedern lässt. Die Nierentubuli steigen aus der Nierenrinde abwärts ins Nierenmark und bilden beim Aufwärtssteigen eine Haarnadelkurve aus, die als ›Henle-Schleife‹ bezeichnet wird. Je nach Länge der Henle-Schleife bzw. Lage der Glomeruli, wird die Funktionseinheit als ›juxtamedulläres‹ oder ›cortikales‹ Nephron bezeichnet. Distale Tubuli mehrerer Nephrone münden in das Sammelrohr. Das Sammelrohr verläuft durch das Nierenmark und mündet in die Nierenkelche, wo der Sekundärharn in das Nierenbecken abgegeben und über den Ureter abgeleitet wird.

In den Glomeruli erfolgt die Druckfiltration des Blutes. Der auf diese Weise gebildete Primärharn (Ultrafiltrat) wird von der Bowman-Kapsel aufgenommen und in den Nierentubulus weitergeleitet. Dort finden unterschiedliche Prozesse zur Rückgewinnung und Ausscheidung von Stoffen statt. Durch Resorption werden u. a. Elektrolyte und Wasser zurückgewonnen und durch aktive Sekretion Katabolite wie Harnstoff, Harnsäure und Kreatinin sowie Elektrolyte ausgeschieden. In der Henle-Schleife und dem Sammelrohr wird der Primärharn im Gegenstromprinzip aufkonzentriert. Die Harnbildung kann dabei durch die Hormone Aldosteron (primär Natriumrückresorption) und Adiuretin (Wasserrückresorption) gesteuert werden.

Wird diese Funktionsweise der Nieren und damit das physiologische Gleichgewicht gestört, können die gesundheitlichen Folgen mitunter immens sein. Bereits durch die Abnahme der Perfusion und somit der Filtrationsleistung der Glomeruli werden die Nephrone ischämisch geschädigt. Die akute Nierenschädigung wird im Nachfolgenden unter 4.2 weiter thematisiert.

4.2 Akute Nierenschädigung (AKI)

Bei der akuten Nierenschädigung (AKI: *acute kidney injury*) ist die Funktionsweise der Niere plötzlich empfindlich gestört. In der Praxis wird der Begriff nach wie vor synonym mit dem akuten Nierenversagen (ARF: *acute renal failure*) verwendet und z. T. gleichgesetzt. Nach aktuellem Kenntnisstand ist dies aber faktisch falsch und daher abzulehnen. Unter dem Begriff

»*ischuria*« wurde das akute Nierenversagen erstmals im Jahr 1802 von William Heberden in der Literatur beschrieben [1, 2].

Der Fachbegriff »akutes Nierenversagen« wurde erst von Homer W. Smith im Jahr 1951 verwendet [2, 3]. Allerdings erfolgte in diesem Zuge keine klare klinische Definition für diesen Fachbegriff, was dazu führte, dass dieser Begriff in den nachfolgenden Jahren eine breite Anwendung mit den unterschiedlichsten Interpretationen fand. Erst durch die Entwicklung der RIFLE-Kriterien [4] ist die Bezeichnung des akuten Nierenversagens zu einem definierten Fachbegriff geworden, welcher recht breit gefasst neben minimalen, renalen Funktionsstörungen auch die Schädigungen umfasst.

Die Bezeichnung »akute Nierenschädigung« ist somit umfassender und daher zu bevorzugen [5]. Gemäß der Leitlinie von KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*) für die akute Nierenschädigung aus dem Jahr 2012 markiert bereits ein Anstieg des Serumkreatinins (SCr) auf $\geq 0,3$ mg/dl ($\geq 26,5$ $\mu\text{mol/l}$) eine akute Nierenschädigung. Gleiches gilt für einen Anstieg um mehr als das 1,5-fache des Ausgangswertes von vor sieben Tagen oder der Abfall der Urinproduktion auf $< 0,5$ ml/kg Körpergewicht (KG)/h für sechs bis zwölf Stunden [2]. Die renale Schädigung wird dabei ihrem Schweregrad entsprechend eingeteilt (siehe **Tab. 1**, S. 14).

Tab. 1. Einteilung der akuten Nierenschädigung nach Schweregrad.

Schweregrad	Serumkreatinin	Urinproduktion
1	1,5- bis 1,9-fache zum Ausgangswert Oder	< 0,5 ml/kg/h für 6-12 h
	Anstieg $\geq 0,3$ mg/dl ($\geq 26,5$ $\mu\text{mol/l}$)	
2	2,0- bis 2,9-fache zum Ausgangswert	< 0,5 ml/kg/h für ≥ 12 h
3	3,0-fache zum Ausgangswert Oder	< 0,3 ml/kg/h für ≥ 24 h Oder
	Anstieg $\geq 4,0$ mg/dl ($\geq 353,6$ $\mu\text{mol/l}$) Oder	
	Einleitung einer Nierenersatztherapie Oder	Anurie für ≥ 12 h
	Abnahme eGFR auf < 35 ml/min. per $1,73$ m ² (bezogen auf Patienten < 18 Jahre)	

Adaptiert nach der KDIGO-Leitlinie für die akute Nierenschädigung aus dem Jahr 2012 [2]. eGFR: *estimated glomerular filtration rate*, geschätzte glomeruläre Filtrationsrate.

Der Leitlinie entsprechend wäre das akute Nierenversagen dem Schweregrad 3 zuzuordnen. Primäre Ursachen einer renalen Schädigung können u. a. allergische Reaktionen, bakterielle Infektionen, eine Sepsis oder ein durch Ischämie/Reperfusion (I/R) bedingter Schaden, wie er im Zuge einer Transplantation auftritt, sein [6]. Dieser Schädigungsmechanismus wird in der vorliegenden Arbeit im gleichbenannten I/R-Modell untersucht, welches unter 4.6.1 näher beschrieben wird.

Die akute Nierenschädigung ist somit eine Form der akuten Nierenerkrankung (AKD: *acute kidney disease*) und kann mit weiteren akuten oder chronischen Nierenerkrankungen einhergehen [2]. Die gestörte glomeruläre Filtrationsrate (GFR) kann sich grundsätzlich wieder normalisieren und die Schädigung regenerieren. Allerdings kann auch ein dauerhaft geringer oder sogar ein kompletter Funktionsverlust der Niere eintreten. Im Fall einer nicht vollständigen Regeneration kann sich aus der akuten Nierenschädigung eine chronische Nierenerkrankung (CKD: *chronic kidney disease*) entwickeln, die im Folgenden unter 4.3 weiter beschrieben wird.

Chronische Nierenerkrankungen können weiter fortschreiten, bis hin zum terminalen Nierenversagen (ESRD: *end stage renal disease*). In diesem Stadium benötigen die betroffenen

Patienten eine lebenslange Dialyse oder Nierentransplantation. Dies führt auf, wie wichtig das rechtzeitige Erkennen einer renalen Funktionsstörung ist. Trotz der vorhandenen Definition nach den RIFLE-Kriterien und den Handlungsempfehlungen aus der KDIGO-Leitlinie von 2012 ist das rechtzeitige Erkennen einer AKI in der Praxis u. a. aufgrund der Nachweismethode weiterhin limitiert: »*An additional problem relates to the limitations of SCr and urine output for detecting AKI. In the future, biomarkers of renal cell injury may identify additional patients with AKI and may identify the majority of patients at an earlier stage.*« [KDIGO Group 2012, 2].

Nach wie vor besteht ein dringender Bedarf für die Identifizierung und Etablierung geeigneter Biomarker. Diese müssten eine frühe Erkennung, besser gar eine prädiktive Nutzung ermöglichen. Bei renalen Funktionsstörungen ist ein frühzeitiges Handeln unabdingbar, um Folgeschäden zu vermeiden. Daher sind Biomarker von besonderem Interesse, die bereits das Risiko zur Entwicklung einer AKI – oder bei einer bereits bestehenden AKI deren Verlauf – prognostizieren könnten.

4.3 Chronische Nierenerkrankung (CKD)

Chronische Nierenerkrankungen (CKD: *chronic kidney disease*) werden primär durch Komplikationen einer bestehenden Diabetes-Erkrankung hervorgerufen, durch Bluthochdruck, Übergewicht oder bereits bestehende Autoimmunitäts-Erkrankungen [6]. Sie können sich aber auch aus anhaltenden, mitunter irreversiblen akuten Nierenschädigungen entwickeln. In Industrieländern sind mehr als 10 % der globalen Bevölkerung von einer CKD betroffen [7]. Zielgerichtete Therapien sind nach wie vor nicht verfügbar [8-10]. Somit stellt die CKD weltweit eine zunehmende Ursache für Morbidität und Mortalität dar.

Entsprechend den aktuellen KDIGO-Leitlinien für die »Evaluation und das Management der chronischen Nierenerkrankung« [11] definiert sich eine CKD durch eine Abweichung in der physiologischen Nierenfunktion und -struktur, die über mind. drei Monate besteht [11] und eine geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR: *estimated glomerular filtration rate*) von weniger als 60 ml/min/1.73 m² bei zwei Vorkommnissen aufweist, die 90 Tage voneinander entfernt liegen [12]. Abhängig vom Level der GFR (glomeruläre Filtrationsrate), wird der Schweregrad der CKD in fünf Stadien klassifiziert [11]. Im Fall eines terminalen Nierenversagens (ESRD: *end stage renal disease*) benötigt der Patient eine Nierenersatztherapie in Form einer lebenslangen Dialyse oder renalen Transplantation.

Die Glomerulonephritis (GN) zählt zu den chronischen Nierenerkrankungen und umfasst immunvermittelte Nierenerkrankungen, die durch Schädigungen des glomerulären Kompartiments der renalen Nephrone charakterisiert sind [13]. Nach Anders *et al.* [14] kann eine GN in die folgenden fünf Kategorien eingeteilt werden: infektionsbedingte, autoimmune, alloimmune, autoinflammatorische und monoklonale gammopathiebedingte GN. Dabei ist die autoimmune GN durch die Antwort des adaptiven Immunsystems auf verschiedene, körpereigene Antigene charakterisiert, welche in den Nieren selbst oder systemisch exprimiert werden. Aktuell umfasst sie neun Subtypen [14].

Die Lupus Nephritis (LN) ist eine dieser Subtypen der autoimmunen GN und zeichnet sich durch den Verlust der Toleranz gegenüber Chromatin-Komponenten und anderen körpereigenen Antigenen aus [15]. Die Therapieoptionen sind beschränkt. Nach wie vor fokussieren sie sich auf den Einsatz von Glucocorticoiden zur Kontrolle der Krankheitsaktivität. Dabei sind sie nicht spezifisch und weisen Nebenwirkungen auf. Ein Überblick der aktuell in Klinischen Studien zu evaluierenden Prüfpräparate wird in der Übersichtsarbeit von Anders *et al.* [14] gegeben. Das in dieser Arbeit verwendete Modell einer chronischen Nierenerkrankung ist dem Subtyp ›Anti-GBM-Erkrankung‹ (GBM: glomeruläre Basalmembran) einer autoimmunen GN zuzuordnen und wird tiefergehend unter 4.6.2 beschrieben.

4.4 Tubulus-Epithelzellen (TEZ)

Wie eingangs unter 4.1 beschrieben und abgebildet, ist die Funktionseinheit der Niere das Nephron, welches aus dem Nierenkörperchen und dem Nierentubulus besteht. Der Nierentubulus wird aus den sogenannten ›renalen Tubulus-Epithelzellen‹ (TEZ) gebildet. Im Kontext der Nierenerkrankungen und der Entstehung einer renalen Fibrose, wurde der Fokus lange Zeit auf (Myo)Fibroblasten gerichtet. Diese Zelltypen produzieren u. a. Kollagen, was zu einer Zunahme der extrazellulären Matrix führt. Diese zunehmende Fibrosierung geht mit Funktionsstörungen sowie -einschränkungen des betroffenen Gewebes einher.

Inzwischen haben aber verschiedene Studien gezeigt, dass die Tubulus-Epithelzellen (TEZ) dabei ebenfalls eine wichtige Rolle spielen [16]. Darüber hinaus wird davon ausgegangen, dass TEZ die Entwicklung von einer akuten zu einer chronischen Nierenerkrankung steuern [17]. Im Fall einer milden und vorübergehenden Schädigung steuern TEZ die Regeneration und so-

mit die Wiederherstellung der Nierenfunktion [18, 19]. TEZ selbst können aber auch einer fehlerhaften Reparatur unterlaufen und somit die renale Fibrose verschlechtern, wenn die Schädigung schwer und fortwährend ist [19-21].

Ein Überblick über die intrazellulären Signalwege, die in TEZ nach einer Schädigung ablaufen und die Schädigung fördern sind in der Übersichtsarbeit von Qi und Yang [22] zusammengefasst. Es gibt Hinweise darauf, dass die Schwere und Frequenz der TEZ-Schädigung definieren, ob der Reparaturmechanismus zur Wiederherstellung der Nierenfunktion oder Entwicklung einer Nierenfibrose führt [23]. Die Entwicklung einer renalen Fibrose in der CKD ist dennoch nicht vollständig aufgeklärt. Jedoch konnte bereits gezeigt werden, dass renale TEZ den B-Zellen-Aktivierungsfaktor (BAFF) – ein inflammatorisch wie regulatorisch agierendes Cytokin – produzieren [24]. Daher ist auch dessen Beteiligung im Rahmen renaler Schädigungen denkbar.

4.5 B-Zellen-Aktivierungsfaktor (BAFF)

Der B-Zellen-Aktivierungsfaktor BAFF (*B cell activating factor belonging to the TNF family*, TNFSF13B) ist ein Cytokin aus der TNF-Familie (TNF: Tumornekrosefaktor), welches erstmals 1999 von Schneider *et al.* [25] beschrieben wurde. Dieses Cytokin spielt eine wichtige Rolle bei der Aktivierung, Differenzierung und dem Überleben von B-Zellen [25, 26]. BAFF ist daher eng mit Autoimmunität verbunden und agiert inflammatorisch wie regulatorisch [27]. Entgegen der langjährigen Annahme, dass nur myeloide Zellen BAFF exprimieren, sind heute zahlreiche Zellen als Expressionsort von BAFF bekannt. Einen Überblick gibt die Übersichtsarbeit von Vincent *et al.* [28].

BAFF ist ein Typ-II membrangebundenes Protein [29], das durch Furin gespalten und in seiner biologisch aktiven Form als Homotrimer freigesetzt wird [30]. Signale vermittelt BAFF über drei verschiedene Rezeptoren: den BAFF-Rezeptor (BAFF-R, TNFRSF13C), welcher Überlebenssignale vermittelt [31-33], BCMA (*B cell maturation antigen*, TNFRSF17), beteiligt an der Differenzierung und dem Überleben von Plasmablasten und langlebigen Plasmazellen im Knochenmark [34, 35] und TACI (*transmembrane activator and CAML interactor*, TNFRSF13B), welcher an der negativen Regulation, dem Antikörperklassenwechsel und der T-Zellen-unabhängigen Antikörperantwort beteiligt ist [36-39]. Eine Hochregulierung des Cytokins BAFF wird im Zusammenhang mit akutem Nierenversagen, renalen Transplantationen und Abstoßungsreaktionen berichtet [40-45].

Der NF- κ B-Signalweg ist für die Regulation der Immunantwort von großer Bedeutung, wird durch einen Anstieg an inflammatorischen Cytokinen aktiviert und ist mit chronischen Erkrankungen wie der CKD assoziiert [46]. Generell ist eine Hochregulation des Transkriptionsfaktors NF- κ B bereits für viele verschiedene Nierenerkrankungen wie z. B. der IgA-Nephropathie, rasch progredienten GN, LN, *Minimal-Change-Glomerulonephritis* und membranösen Nephropathie beschrieben [47]. Im Fall der Typ-2-Diabetes Nephropathie wird der NF- κ B Signalweg in renalen TEZ aktiviert und korreliert signifikant mit interstitieller Inflammation und Proteinurie [48].

Der B-Zellen-Aktivierungsfaktor BAFF aktiviert den kanonischen wie nicht-kanonischen NF- κ B Signalweg durch BAFF-R Bindung [49-51] und ist durch seine Wirkung auf B-Zellen bereits ein therapeutisches Schlüsselziel für verschiedenste Autoimmunerkrankungen [52, 53]. In SLE-Patienten werden durch die Blockierung von BAFF eine Reduktion der Glucocorticoid-Dosis erreicht und Organschäden verhindert [54]. Darüber hinaus korrelieren BAFF und IgG-Immunkomplexe mit der Krankheitsaktivität in SLE-Patienten [55].

BAFF spielt ebenfalls in der LN eine Rolle, indem es renale tertiäre lymphoide Strukturen (TLSs) induziert und die Positionierung von T-Zellen in den Glomeruli reguliert [56]. Dabei ist die renale Pathologie mit einer erhöhten BAFF-Produktion von Zellen innerhalb der Nieren, der renalen Infiltration von Immunzellen und der Entwicklung von TLS und glomerulären IgG/C3-Immunkomplexen assoziiert. Patienten mit proliferativer LN können in drei verschiedene Gruppen klassifiziert werden, eine davon ist die BAFF-dominante Gruppe [57]. BAFF und dessen Rezeptoren zeigen verschiedene Expressionsmuster in den unterschiedlichen LN-Klassen [58]. Für die IgA-Nephropathie ist bereits bekannt, dass BAFF die Expression von Fibroblasten-Faktoren in der Niere durch Aktivierung des TRAF6/NF- κ B-Signalweges verstärkt [59]. BAFF aktiviert B-Zellen durch den NF- κ B Signalweg, um einen Überschuss an IgA1 zu sekretieren, was zu IgA-Nephropathie-ähnlichen Veränderungen in Maus-Nieren führt [60].

B-Zellen-Aktivierung und erhöhte BAFF-Level sind nachweisbar in Patienten mit IgA-Nephropathie [61, 62]. Es wurde bereits gezeigt, dass GN-Patienten höhere BAFF-Level aufweisen und die Expression der Rezeptoren in den tubulointerstitiellen Arealen erhöht ist [63]. Vor diesem Hintergrund ist es denkbar, dass BAFF direkt an der Pathogenese der GN beteiligt ist [64].

4.6 Nierenschädigungsmodelle

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei verschiedene Nierenschädigungsmodelle untersucht und miteinander verglichen, um Einblick in beide Phasen einer Nierenschädigung zu erhalten. Mit dem Modell der Ischämie/Reperfusion (I/R) wurde die akute Phase einer Nierenschädigung und mithilfe des Modells der Nephrotoxischen Serum Nephritis (NTN) die chronische Phase einer Nierenerkrankung untersucht.

4.6.1 Ischämie/Reperfusion (I/R)

In Anlehnung an die unter 4.2 beschriebene akute Nierenschädigung, stellt die Ischämie/Reperfusion (I/R) ein etabliertes Modell zur Untersuchung der akuten Phase einer Nierenschädigung durch einen ischämischen Reiz dar [65]. Mit diesem Modell können reproduzierbare funktionelle wie strukturelle Schädigungen der Niere untersucht werden. Die I/R selbst ist in zwei Phasen zu unterteilen. In der ersten Phase, die ersten drei Tage nach dem ischämischen Ereignis, sind Inflammations-, Schaden- und Apoptose-Marker maximal induziert. Ab dem dritten Tag der Reperfusion beginnt die zweite Phase der I/R, gekennzeichnet durch eine Abnahme der vorausgenannten Marker und die maximale Induktion von Fibrose-Markern [66].

In der vorliegenden Arbeit wurde das Modell unilateral angewandt, dabei jeweils die linke Niere für 45 min. von der Blutzufuhr abgeklemmt (Ischämie) und im Anschluss die Durchblutung (Reperfusion) für die nachfolgende Beobachtungszeit von drei Tagen wieder ermöglicht. Eine detaillierte Beschreibung der Durchführung ist der Originalarbeit [67] zu entnehmen.

Die I/R führt zu einer Störung der Nierenfunktion und folglich zum akuten Nierenversagen [68, 69]. Das renale Gewebe wird dabei zunächst durch den oxidativen Stress und die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS: *reactive oxygen species*) geschädigt. Darüber hinaus ist die *Scavenging*-Kapazität für ROS reduziert, was den Schaden verstärkt [70]. Im Folgenden führt zusätzlich die Reperfusion zu einer weiteren Schädigung der Niere [71-73]. Durch die Aktivierung von Todes-Rezeptor-abhängigen sowie mitochondrialen und nekrotischen Signalwegen [74, 75] sind die Tubulus-Epithelzellen (TEZ) in den proximalen Abschnitten der Nierentubuli vom I/R-Schaden betroffen [76]. Der I/R-Schaden stellt somit einen der Hauptgründe für akutes Nierenversagen in nativen [68, 77] wie transplantierten Nieren dar [78].

Unabhängig vom auslösenden Reiz spielen Immunzellen beim akuten Nierenversagen eine tragende Rolle. In Hinblick auf B-Zellen wird deren Funktion kontrovers diskutiert. Eine pathogene Funktion postuliert dabei die Studie von Burne-Taney *et al.* [79]. B-Zell-defiziente Mäuse, welche keine peripheren reifen B-Zellen entwickeln können, scheinen vor einem I/R-Schaden geschützt zu sein [79]. Der Transfer von Serum aus Wildtyp-Mäusen stellt den Phänotyp des I/R-Schadens jedoch wieder her. Renner *et al.* [80] konnten zeigen, dass B-Zellen durch IgM-Antikörper nach einer I/R pathogen wirken. Demgegenüber produzieren B-Zellen jedoch auch das anti-inflammatorische Interleukin (IL)-10, welches sich positiv auf den I/R-Schaden auswirkt [80]. Die Niere infiltrierende B-Zellen verändern die tubuläre Atrophie (Umwandlung von TEZ in Fibroblasten während des Nierenversagens) sowie Proliferation nach einem I/R-Schaden [81]. Das Cytokin BAFF selbst ist im Kontext des murinen I/R-Modells zuvor noch nicht untersucht worden.

4.6.2 Nephrotoxische Serum Nephritis (NTN)

Um eine chronische Nierenerkrankung zu untersuchen, wurde das Modell der Nephrotoxischen Serum Nephritis (NTN) angewandt. Zur Induktion wird ein Nephrotoxisches Serum (NTS) injiziert, das zur Beeinträchtigung der glomerulären Filtration und folglich zur Proteinurie wie Inflammation führt [82]. Neben der renalen Fibrose während einer chronischen Nierenschädigung [82] kann zusätzlich eine Entzündung der Glomeruli (Glomerulonephritis, GN) durch Ablagerung von Antikörperkomplexen untersucht werden [83].

Das dieser Arbeit zugrunde liegende Modell basiert auf der nicht-beschleunigten murinen Nephrotoxischen Serum Nephritis, welche ursprünglich als akutes Modell der GN entwickelt wurde [84-87]. Ougaard *et al.* [82] evaluierten dieses Modell als CKD-Modell. Die Nephrotoxische Serum Nephritis (NTN) wurde durch einmalige intravenöse Injektion eines Nephrotoxischen Serums (NTS) induziert und nach einer Beobachtungszeit von 21 Tagen analysiert. Die Durchführung ist der Originalarbeit zu entnehmen [88]. Das NTS besteht aus Immunglobulinen der Klasse G (IgGs), die sich nach Injektion zunächst in der glomerulären Basalmembran ablagern. Proteinurie ist bereits 24 Stunden danach detektierbar. Autologe IgGs in den Glomeruli können acht bis zehn Tage nach Induktion beobachtet werden. Histopathologisch sind die durch Fibrose bedingten glomerulären Läsionen, als ›glomerular crescents‹ bezeichnet, nach drei Wochen zu beobachten und führen schlussendlich zur Glomerulonephritis [89].

Wie bereits unter 4.4 eingehend beschrieben, sind renale TEZ kritisch für die Entwicklung einer renalen Fibrose [16, 17] und produzieren das Cytokin BAFF [24]. Daher ist es denkbar, dass das BAFF/BAFF-R-System direkt an der Pathogenese einer chronischen Nierenerkrankung wie der Glomerulonephritis beteiligt ist. Weder das Cytokin BAFF noch der BAFF-R wurden zuvor im murinen Modell der NTN untersucht.

4.7 Zielsetzung der Arbeit

Eine massive Störung der Nierenfunktion, wie es bei der akuten Nierenschädigung der Fall ist, stellt eine große Gefahr hinsichtlich einer irreversiblen Schädigung der Nieren dar. Infolgedessen kann sich aus der akuten Schädigung eine chronische Nierenerkrankung entwickeln, in deren Verlauf es zum terminalen Nierenversagen kommen kann. Ist dieses terminale Stadium erreicht, besteht eine lebenslange Notwendigkeit zur Dialyse oder Nierentransplantation. Chronische Nierenerkrankungen stellen somit eine zunehmende Ursache für die weltweite Morbidität wie Mortalität dar. Aktuell sind keine zielgerichtet ursächlichen, nur symptomatische Therapieansätze verfügbar, die mit starken Nebenwirkungen verbunden und oftmals nephrotoxisch sind.

Zur Entwicklung ursächlicher Therapieansätze ist es unabdingbar, die zugrunde liegenden Mechanismen bei der Entstehung einer Nierenschädigung zu entschlüsseln und in Hinblick auf den irreversiblen Turnover zu einer chronischen und schlussendlich terminalen Nierenerkrankung zeitlich einordnen zu können. Darüber hinaus bedarf es der Identifizierung geeigneter Biomarker, die eine frühe, gar prädiktive Erkennung einer Nierenschädigung ermöglichen, um rechtzeitig eine geeignete Therapie einzuleiten und prognostisch eingesetzt Krankheitsverläufe vorhersagen oder beurteilen zu können.

Durch seine immunologischen wie regulatorischen Funktionen und die renale Expression durch Tubulus-Epithelzellen ist anzunehmen, dass der B-Zellen-Aktivierungsfaktor BAFF direkt mit den Prozessen im Rahmen einer Nierenschädigung verknüpft ist.

Daher soll der Effekt des Cytokins BAFF und seine Interaktion mit dem BAFF-R zum einen während einer akuten Nierenschädigung, ausgelöst durch eine Ischämie/Reperfusion (I/R), und zum anderen in der chronischen Phase einer Nierenschädigung (hier: Anti-GBM-Erkrankung), induziert durch die Injektion eines Nephrotoxischen Serums (NTS), untersucht werden. Beide Modelle werden an autoimmunologisch nicht vorbelasteten Mausstämmen durchgeführt, um

eine unbeeinflusste Untersuchung des Schädigungsreizes in Bezug auf das Cytokin BAFF und den BAFF-R zu ermöglichen.

Die Untersuchungen werden an BAFF-ko- (B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Msc}/J) und BAFF-R-ko- (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass}/J) Mäusen durchgeführt und die erzielten Ergebnisse mit denen von Wildtyp-Mäusen (I/R: Wildtyp (wt)-Geschwistertiere, NTN: Wildtyp-Mausstamm C57BL/6J) verglichen. Bis zur Publikation der Ergebnisse in den beiden, dieser Arbeit zugrunde liegenden Veröffentlichungen, waren keine Studien bekannt, die das BAFF/BAFF-R-System in murinen Nieren zuvor im I/R- oder NTN-Modell untersucht haben. Anstatt bereits bekannte, hochregulierte Gene zu untersuchen, wurde im Rahmen dieser Arbeit jeweils eine vollständige Untersuchung aller hoch- sowie runterregulierter Gene mithilfe der Hochdurchsatz-RNA-Sequenzierungs-Technologie durchgeführt.

Ziel ist es, potenzielle Biomarker für die Entstehung einer Nierenschädigung zu detektieren, deren Expression in den Kontext des BAFF- bzw. BAFF-R-Knockouts zu setzen und Einblick in die dabei aktivierten Signalwege zu erhalten. Darüber hinaus soll der Effekt von BAFF und des BAFF-R im Rahmen einer akuten wie chronischen Nierenschädigung herausgearbeitet und einander gegenübergestellt werden, um die Beteiligung des BAFF/BAFF-R-Systems zu beurteilen.

5 Publikationen

Die vorliegende kumulative Dissertation besteht aus zwei in thematischem Zusammenhang stehenden Publikationen. Im Rahmen der ersten Publikation *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice* wurden die Untersuchungsergebnisse der in BAFF- und BAFF-R-defizienten Mäusen durchgeführten Ischämie/Reperfusion (I/R) dargestellt [67]. Die zweite Publikation *Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis* befasst sich mit den Auswirkungen der Injektion eines Nephrotoxischen Serums in BAFF- und BAFF-R-defizienten Mäusen [88].

5.1 *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice*

Die Publikation *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice* wurde am 26. September 2023 in *PLOS ONE* veröffentlicht. Die Rolle des Cytokins BAFF und dessen Rezeptor BAFF-R wurden hierbei in der akuten Phase einer Nierenschädigung, induziert durch die Ischämie/Reperfusion (I/R), untersucht [67]. Transkriptomanalysen der ischämischen und kontralateralen Kontroll-Nieren von BAFF-ko- und BAFF-R-ko-Mäusen wurden im Vergleich zu den Nieren der Wildtyp-Geschwistertiere durchgeführt. Durch die Untersuchung aller hoch- und runterregulierten Gene im verwendeten Modell, konnten die Expressionsmuster der Knockouts im Vergleich zu den Wildtypen definiert und daraus der Einfluss des Cytokins BAFF und des BAFF-R abgeleitet sowie potenzielle Biomarker für die akute Nierenschädigung detektiert werden.

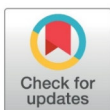
RESEARCH ARTICLE

Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice

Tamara Möckel^{1*}, Sebastian Boegel¹, Andreas Schwarting^{1,2}

1 Department of Internal Medicine I, Division of Rheumatology and Clinical Immunology, University Medical Center of the Johannes Gutenberg University, Mainz, Germany, **2** Center for Rheumatic Disease Rhineland-Palatinate GmbH, Bad Kreuznach, Germany

* Tamara.Moeckel@unimedizin-mainz.de



Abstract

Acute kidney injury (AKI) accompanies with high morbidity and mortality. Incomplete renal recovery can lead to chronic and finally end-stage kidney disease, which results in the requirement of lifelong dialysis or kidney transplantation. Consequently, finding predictive biomarker and therefore developing preventive therapeutic approaches is an urgent need. For this purpose, a better understanding of the mechanism underlying AKI is necessary. The cytokine BAFF (B cell activating factor) is related to AKI by supporting B cells, which in turn play an important role in inflammatory processes and the production of antibodies. In our study, we investigated the role of BAFF and its receptor BAFF-R in the early phase of AKI. Therefore, we performed the well-established ischemia/reperfusion (I/R) model in BAFF (B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Msc/J}) and BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass/J}) deficient mice. Transcriptome of ischemic and contralateral control kidneys was analyzed and compared to wildtype littermates. We detected the upregulation of *Lcn2*, *Lyz2*, *Cd44*, *Fn1* and *Il1rn* in ischemic kidneys as well as the downregulation of *Ki*. Furthermore, we revealed different expression patterns in BAFF and BAFF-R knockout mice. Compared to wildtype littermates, up- and downregulation of each investigated gene were higher in BAFF-R knockout and lower in BAFF knockout. Our findings indicate a positive impact of BAFF knockout in early phase of AKI, while BAFF-R knockout seems to worsen I/R injury. In addition, our study shows for the first time a remarkable renal upregulation of *Lyz2* in a murine I/R model. Therefore, we consider *Lyz2* as conceivable predictive or early biomarker in case of I/R and AKI.

OPEN ACCESS

Citation: Möckel T, Boegel S, Schwarting A (2023) Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice. PLoS ONE 18(9): e0291619. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619>

Editor: Yasmina Abd-Elhakim, Zagazig University, EGYPT

Received: November 25, 2022

Accepted: September 2, 2023

Published: September 26, 2023

Copyright: © 2023 Möckel et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All scripts, gene expression data and supplement tables to reproduce the figures and analysis of this paper are available at <https://github.com/sebboegel/moeckel2022>.

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Introduction

B cell activating factor (BAFF, TNFSF13B) is a cytokine of the tumor necrosis factor (TNF) family, which was first described by Schneider *et al.* in 1999 [1]. It plays an important role for activation, differentiation and survival of B cells [1, 2]. In addition, BAFF is closely linked with autoimmunity and exerts both inflammatory and regulatory effects [reviewed in 3]. Contrary to the long-standing assumption that only myeloid cells are expressing BAFF, a wide variety of cells is now known to be a source of this cytokine [reviewed in 4]. BAFF is a type II

membrane-bound protein [5], which is cleaved by furin and released in its biological active form as a homotrimer [6]. Signaling is possible via three different receptors: BAFF receptor (BAFF-R, TNFRSF13C), mediating survival signals [7–9], BCMA (B cell maturation antigen, TNFRSF17), involved in differentiation and survival of long-lived bone marrow plasma cells and plasmablasts [10, 11] and TACI (transmembrane activator and cyclophilin ligand interactor, TNFRSF13B), required for negative regulation, class-switch recombination and T cell-independent antibody response [12–15]. Interestingly, the binding of one BAFF trimer to BAFF-R leads to no or only very low signal. Interaction with another BAFF trimer, bound to BAFF-R, via flap region is required for signal transduction, which shows that binding to and activation of BAFF-R are separate processes [16]. Upregulation of BAFF has been reported in acute kidney failure, transplantation and graft rejection [17–22].

Acute kidney injury (AKI), used synonymously with acute renal failure (ARF), ranges from minor to complete loss of kidney function and therefore accompanies with high morbidity and mortality. In case of incomplete recovery, patients can develop chronic and finally end-stage kidney disease, resulting in the requirement of a lifelong dialysis or kidney transplantation. Ischemia/reperfusion (I/R) is an appropriate model for AKI. The reasons for damage evoked by I/R are oxidative stress and the production and reduced scavenging capacity of reactive oxygen species (ROS) at the same time [23]. It is erroneous to assume that only ischemia is responsible for the injury. Ischemia first initiates the injury, followed by cell death, but reperfusion causes additional damage [24–26]. Thus, I/R contributes to renal dysfunction, which is associated with acute renal failure [27, 28] and necrotic pathways [29]. Venkatachalam *et al.* [30] showed that the proximal section of tubular epithelial cells (TECs) is vulnerable to I/R injury. The early loss of TECs after I/R is caused by the activation of death receptor dependent and mitochondrial pathways [31]. I/R injury is the major cause of acute renal failure in native [27, 32] as well as transplanted kidneys [33]. In transplanted kidneys I/R injury leads to impaired graft function [34] and thereby to a higher risk of graft rejection [35, 36]. Immune cells play a leading role in AKI, which can also be caused by sepsis or toxins instead of ischemia events. B cells seem to have an ambivalent role. Burne-Taney *et al.* [37] postulated a pathogenic function of B cells in I/R injury. B cell-deficient mice, unable to develop peripheral mature B cells, were protected from I/R injury [37]. The transfer of serum from wildtype mice restored the I/R injury phenotype [37]. Furthermore, due to natural Ab IgM, which bind to mesangium, B cells act pathogenic after I/R [38]. At the same time B cells produce anti-inflammatory Interleukin (IL)-10, which has a protective effect [38]. Thus, the role of BAFF in I/R is not completely understood.

It is shown, that renal tubular atrophy and thereby tubular proliferation is altered by kidney infiltrating B cells after I/R [39]. The threshold for induction of fibrosis and progression of atrophy amounts an ischemia time of 35 minutes [40]. I/R injury exhibits two phases. The first phase is seen within the first three days, marked by immediate response to initial injurious trigger, which can be seen in a peak of inflammation, injury and cell death markers. In the second phase, which begins on day three of reperfusion, inflammation, injury and cell death markers decrease, but fibrosis markers peak [40].

In case of graft rejection retransplantation is required [17] and for end-stage renal disease patients transplantation is the best treatment option [41]. The main problem of transplantations is graft rejection, also under immunosuppression. Applied drugs are focused on T cells and thereby preventing acute rejection. These drugs are inefficient preventing chronic rejections [42, 43]. Serum levels of donor specific antibodies (DSA) and C4d staining of kidney biopsies are still the gold standards, even though both methods are not ideal [44]. Applied immunotherapies to suppress the immune system and prevent rejection increase susceptibility for infection and cancer, have severe side effects and are often nephrotoxic. Altogether leads to

dysfunction of the allograft. Another difficulty is the fact, that antibody-mediated rejection (AMR) often do not show the typical phenotypes and clinical manifestations, which leads in a delay of diagnosis and treatment [17]. Actual the 10 years graft survival rate amounts 56% [45], AMR causes 65% of late failures [46]. Key players with regard to rejection are B cells, which are essential contributors to transplant tolerance, produce antibodies against donor human leukocyte antigen (HLA) and non-HLA antigens, activate T cells, produce cytokines, promote inflammation and are involved in the development of tertiary lymphoid organs [reviewed in 47]. In turn, B cells are supported by BAFF, which plays a critical role in the process of antibody-mediated immune-response. Consequently, BAFF is considered as biomarker to predict graft rejection. Levels of BAFF are higher in kidneys with abnormal function and correlate with anti-HLA I and II antibodies [48]. High BAFF protein level and the development of *de novo* HLA antibodies [20] are associated with acute AMR [18]. BAFF was detected in renal transplant biopsies with acute rejection [21]. In case of antibody-incompatible transplantation elevated BAFF serum levels, before removal of antibodies and transplantation, are associated with increased risk of AMR [18]. Although in antibody-compatible transplantation high BAFF level represent a great risk for developing DSA and high BAFF-R mRNA levels predict graft dysfunction [20]. In renal allografts with chronic rejection high BAFF mRNA as well as protein level and BAFF-R positive B and T cells were detected [19, 22]. Serum as well as mRNA BAFF level are increased in chronic antibody-mediated rejection and stable patients compared to healthy controls [17]. But there is no statistically significant difference between stable and chronic antibody-mediated rejection patients, which leads to the assumption, that BAFF is not a useful biomarker for predicting graft rejection [17]. TACI, one receptor of BAFF and overexpressed in patients with chronic antibody-mediated rejection, is maybe a potential biomarker for distinguishing chronic antibody-mediated rejection from stable patients [17]. In addition, Belimumab, a humanized anti-BAFF antibody is successfully used in the treatment of the classic autoimmune disease Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and associated Lupus Nephritis [49–51]. However, no data are available on possible effects of Belimumab therapy in ischemic renal disease, neither in patients nor experimental models.

To unravel the effects of BAFF and its interaction with BAFF-R in the development of acute kidney injury, we used the well-established ischemia/reperfusion model in BAFF and BAFF-R knockout mice. We are not aware of any study investigated the BAFF/BAFF-R system in a murine kidney I/R model so far. Instead of studying genes already known to be upregulated in the I/R model, we performed a comprehensive analysis of all up- and downregulated genes by high throughput RNA sequencing technology. Fig 1 shows the transcriptome approach analyzing the ischemic as well as contralateral kidneys. In particular the impact of the BAFF and BAFF-R knockout will be evaluated with regard to altered extent of renal damage and potential protective effects.

Materials and methods

Ethical statement

Housing, breeding, handling and experimental procedures were conducted in accordance with EU Directive 2010/63/EU as well as the German Animal Welfare Act and were approved by the local authority (Landesuntersuchungsamt Rheinland-Palatinate, reference number 23 177-07/ G 18-1-024).

Laboratory animals

B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Msc/J}, common name BAFF KO (RRID: IMSR_JAX:010572) [52, 53] and B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass/J}, common name BAFF-R KO (RRID: IMSR_JAX:007212) [54], were

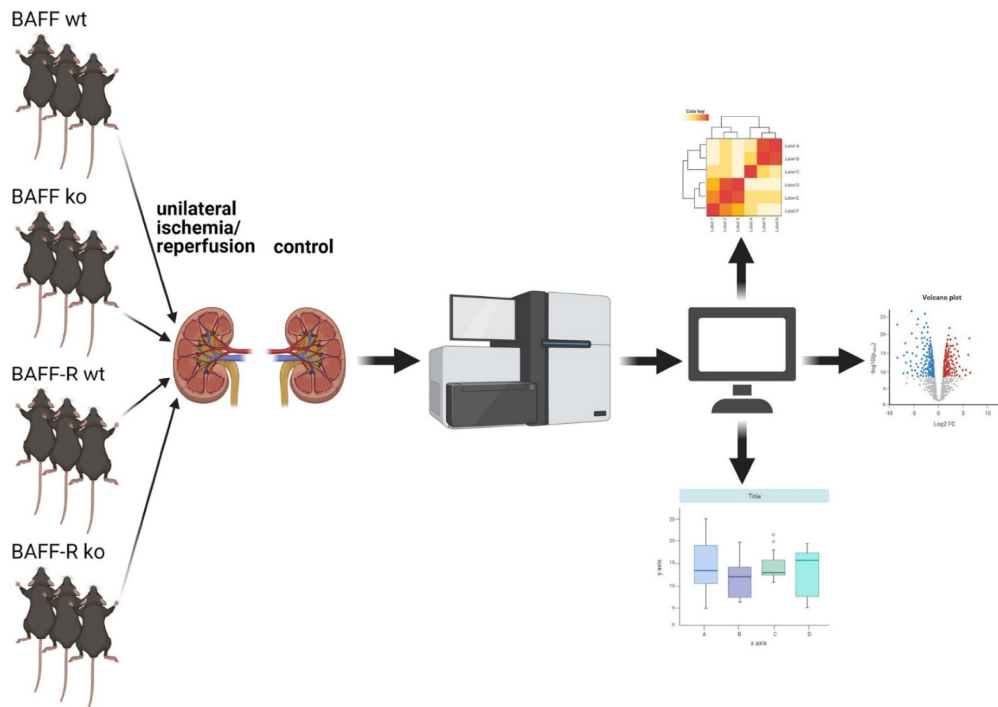


Fig 1. Experimental study design. Unilateral ischemia/reperfusion (I/R) of the left kidney was performed in BAFF KO (B6.129S2-*Tnfrsf13b^{tm1Msc}/J*) and BAFF-R KO (B6(Cg)-*Tnfrsf13c^{tm1Mas}/J*) mice, followed by transcriptome analysis of ischemic and contralateral control kidneys compared to appropriate wildtype littermates. Created with BioRender.com.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619.g001>

purchased from The Jackson Laboratory (Maine, USA). Mice were housed in individually ventilated cages (IVCs) in a specific-pathogen-free (SPF) unit under standardized conditions (12/12 hours light/dark cycle, room temperature $22 \pm 2^\circ\text{C}$, humidity 50–70%). Autoclaved food and water were supplied *ad libitum*. For experimental procedure, eight weeks old female BAFF KO and BAFF-R KO mice as well as their wildtype littermates were housed in filtertop cages in a conventional unit under standardized conditions (12/12 hours light/dark cycle, room temperature $20 \pm 2^\circ\text{C}$, humidity 50–70%).

Unilateral ischemia/reperfusion (I/R)

Borgal 24% (License number 6489082.00.00, Virbac, Carros, France), a mixture of the antibiotics sulfadoxine and trimethoprim, was administered preventive via animals' drinking water (final 0.048%) as of three days before intervention until the end of experiment. For analgesia Buprenorphine (Temgesic, PZN 345928, Indivior, Virginia, USA), 0.1 mg/kg body weight, was injected i.p. 30 minutes before surgery. Isoflurane (PZN 09714675, Piramal Critical Care, Pennsylvania, USA) was used for anesthesia, induction in chamber with 2.75% by volume and during surgery via inhalation mask with 1.8% by volume. Mice were placed in abdominal

position on a heating pad to maintain body temperature during intervention and limbs were fixed, except one. Eyes were protected from drying out by application of eye ointment. After reaching tolerance, stage III of surgical anesthesia according to Guedel [55], checked by unresponsiveness to pinch at toe interdigit of not fixed limb, surgical site was shaved and disinfected with 70% ethanol. With a first cut via left flank incision as small as possible, skin and then peritoneum were opened. Left kidney was exteriorized by using a curved glass capillary. Afferent artery was disconnected by using micro aneurysm clip (Cat. No. 61–0186, Harvard Apparatus, Massachusetts, USA) for 45 minutes. During ischemia time left kidney was relocated into retroperitoneal space and surgical site kept moist with a 0.9% physiological sodium chloride solution containing benzyl alcohol as bacteriostatic agent. For removal of a traumatic hemostat, left kidney was again exteriorized and then relocated into retroperitoneal space. Peritoneum was closed with single-button suture, skin with wound clips (Cat. No. 427631, Clay Adams, Connecticut, USA). Analgesic was applied once again during last control at surgery day, on the following days only if necessary. Reperfusion time amounted three days. After this time, mice were sacrificed by cervical dislocation and ischemic as well as contralateral kidney removed, partly shock frozen and stored at -80°C until RNA isolation.

RNA isolation

Shock frozen kidney tissue was homogenized in Lysis Solution RL (kit further on) by using Tissue Lyser LT (Qiagen N.V., Venlo, Netherlands). Isolation of total RNA from homogenized and lysed kidney tissue was performed with innuPREP RNA Mini Kit (Cat. No. 845-KS-2040250, Analytik Jena GmbH, Jena, Germany) according to manufacturer's manual. RNA concentration and purity was calculated with NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA).

RNA sequencing

Steps described in this section were completely performed by StarSEQ GmbH (Mainz, Germany). Measurement of RNA integrity number (RIN) was performed with Agilent RNA 6000 Nano Kit (Cat. No. 5067–1511) and Agilent 2100 Bioanalyzer (kit and device from Agilent, California, USA). RNA concentration was defined by using Qubit RNA High Sensitivity (HS) Assay Kit (Cat. No. Q32855) and Qubit 4 Fluorometer (kit and device from Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA). Library preparation was done with NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina with unique dual index primer pairs (Cat. No. E7760L, New England BioLabs Inc., Massachusetts, USA). Concentration and quality of library preparation was measured with Qubit 4 Fluorometer by using Qubit dsDNA HS Assay Kit (Cat. No. Q32854, Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA) and QIAxcel Instrument with QIAxcel ScreenGel 1.5.0 Cartridge (Qiagen N.V., Venlo, Netherlands). RNA sequencing (paired-end, 150 bp read length, approximately 25 million reads per sample (usually more)) was performed with Illumina NextSeq 2000 (Illumina, California, USA). Data was provided as FASTQ files.

Sampling and exclusion criteria

In the following bioinformatical analyses, six samples of each strain were investigated (BAFF and BAFF-R). Per strain three ischemic or rather contralateral knockout kidneys were compared to three ischemic or rather contralateral wildtype kidneys.

Samples clustered into two groups, ischemic and contralateral kidneys. If ischemia/reperfusion was not sufficient, recognized by an expression pattern of the ischemic kidney similar to the contralateral kidney, respective sample was excluded from further analyses.

Bioinformatical and statistical analyses

Paired-end RNA Seq data were analyzed on a MacBook with kallisto 0.46.1 [56] using Ensemble Transcriptome v96 *mus musculus* (<https://github.com/pachterlab/kallisto-transcriptome-indices/releases>) as reference, manually deleting transcript sequences from hemoglobin chains. Analysis is carried with R (version 4.1.2) using DeSeq2 [57] for differential gene expression analysis and principal component analysis (PCA). DeSeq2 uses the read counts for each gene in each sample, builds a generalized linear model of the negative binomial family and after several mathematical steps including normalization, estimation of gene-wise dispersion, shrinkage estimation of logarithmic fold changes, Fisher estimation, Wald test and Cook's distance for outlier detection and adjusting for multiple testing using the procedure of Benjamini and Hochberg [58], the tool outputs a log2foldchange and an adjusted p-value for each gene, reflecting the variability of the expression of this gene within a group and between the groups (i.e. differentially expressed between the groups). All mathematical details are described in [58]. Volcano Plots are made with Bioconductor package "Enhanced Volcano" [59]. Figures are made with ggplot2 [60]. All scripts, gene expression data and supplement tables to reproduce the figures and analysis are available at <https://github.com/sebboegel/moeckel2022>.

Results

Three days after unilateral ischemia/reperfusion injury a total of 1905 genes were significantly differentially regulated in ischemic kidneys compared to contralateral kidneys, thereby 1364 up- and 541 downregulated (defined as a log2foldchange > 1, < -1 resp, adjusted p-value < 0.05, see source code, S1 File and Fig 2). We found more up- than downregulated genes in ischemic kidneys and vice versa in contralateral kidneys regardless of the underlying mouse strain (Fig 3). Of these genes, we find Havcr1 ($p < 1.49922764165841e-76$), Lcn2 ($p < 3.44791875648706e-10$), Lyz2 ($p < 9.94678438201453e-33$) and Cd44 ($p < 4.32218440489859e-34$) amongst the top 40 differentially expressed genes for BAFF (Fig 4A) and BAFF-R (Fig 4B) strains. The four genes were upregulated in both strains and thereby in knockout as well as wildtype mice (Fig 4).

Expression pattern of the left kidney of sample L6_wt was similar to contralateral kidneys and therefore ischemia/reperfusion injury was not sufficient (S1 Fig). Consequently, sample L6_wt was not included in further analyses. However, the remaining samples clustered into two groups, ischemic and contralateral kidneys.

Havcr1 was consistently upregulated in ischemic kidneys of knockout and wildtype mice in both strains (Fig 5A). However, BAFF knockout kidneys showed higher Havcr1 expression compared to wildtype littermates, whereas in the BAFF-R strain the expression of Havcr1 was higher in wildtype than knockout kidneys. Comparing both strains, Havcr1 expression was higher in wildtypes of BAFF-R strain than of the BAFF strain. For all contralateral kidneys no expression of Havcr1 was detected.

Expression level of Lcn2 was lower in BAFF knockout kidneys compared to wildtype littermates (Fig 5A). BAFF-R knockout kidneys showed a slightly higher Lcn2 expression than wildtype kidneys. Lcn2 expression level in ischemic wildtype kidneys of BAFF strain is higher compared to BAFF-R strain wildtypes. No expression was detected in the contralateral kidneys of both strains, regardless of genotype.

Lyz2 expression was lower in BAFF knockout kidneys compared to wildtype littermates (Fig 5A). Kidneys of BAFF-R knockout mice showed higher Lyz2 expression level compared to their wildtype littermates. In contralateral kidneys, knockout as well as wildtype of both strains, there was no Lyz2 expression detectable.

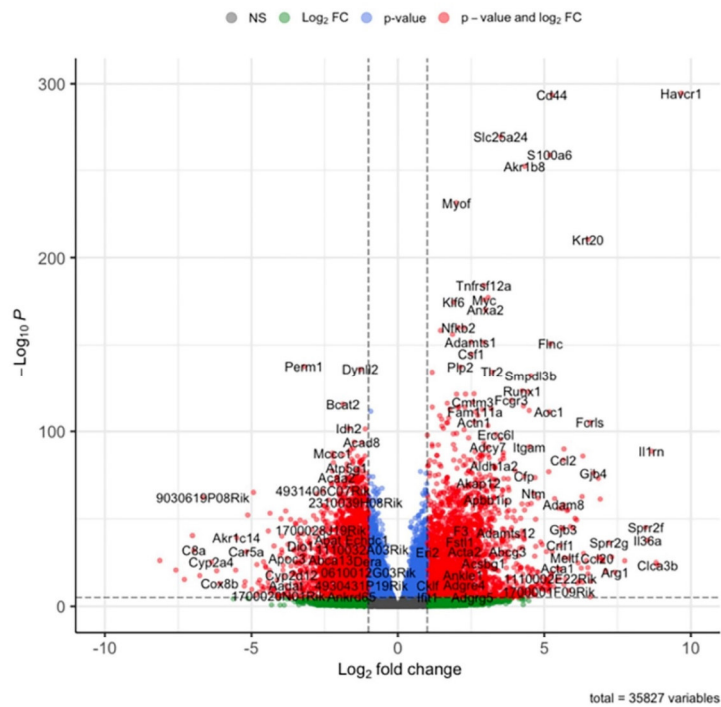


Fig 2. Volcano plot visualizing differentially regulated genes in ischemic versus contralateral kidneys without distinction between BAFF (B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Mhc/j}) and BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mas/j}) strain.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619.g002>

The expression of Cd44 was upregulated in ischemic kidneys compared to contralateral controls in both strains independent of the genotype (Fig 5B). Cd44 expression was lower in BAFF knockout kidneys and higher in BAFF-R knockout kidneys compared to the respective wildtypes. Ischemic wildtype kidneys of both strains showed similar Cd44 expression levels.

Another upregulated gene due to ischemia/reperfusion injury, Fn1, showed a lower expression level in BAFF knockout kidneys compared to wildtype kidneys, whereas Fn1 expression was higher in BAFF-R knockout than wildtype kidneys (Fig 5C). No Fn1 expression was detected in contralateral kidneys of both strains. Ischemic wildtype kidneys of BAFF strain showed higher expression levels for Fn1 than wildtype kidneys of the BAFF-R strain.

Il1rn showed a slightly lower expression level in BAFF knockout kidneys compared to wildtype kidneys (Fig 5B). The Il1rn expression was higher in BAFF-R knockout kidneys compared to wildtype kidneys. Ischemic wildtype kidneys of the BAFF and BAFF-R strain showed a similar expression of Il1rn. For all contralateral kidneys no Il1rn expression was detected.

While Lcn2, Lyz2, Cd44, Fn1 and Il1rn were upregulated in BAFF knockout kidneys after ischemia/reperfusion, the expression level was consistently lower compared to wildtype littermates. Ischemic BAFF-R knockout kidneys showed upregulated expression of Lcn2, Lyz2, Cd44, Fn1 and Il1rn as well. However, expression levels were always higher in knockout

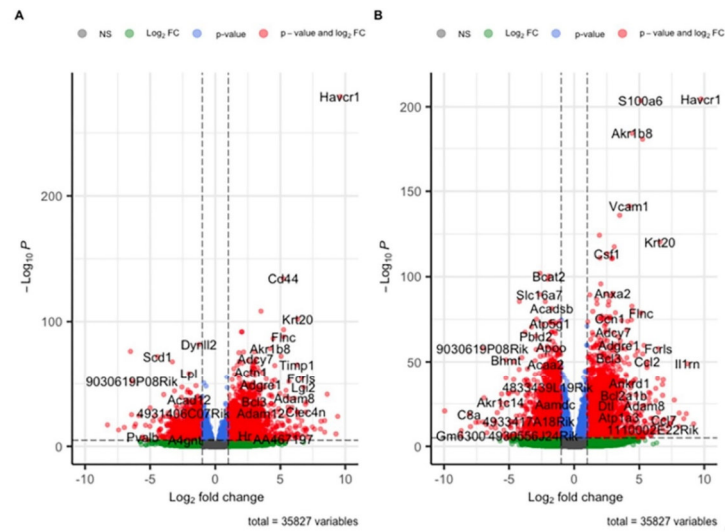


Fig 3. Volcano plot visualizing differentially regulated genes in ischemic versus contralateral kidneys. A) BAFF (B6.129S2-*Tnfsf13b^{tm1Msc/J}*) strain. B) BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c^{tm1Msc/J}*) strain.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619.g003>

compared to wildtype kidneys. Regarding *Havcr1* expression pattern we found the exact opposite: higher *Havcr1* expression in BAFF knockout than wildtype kidneys and lower expression of *Havcr1* in BAFF-R knockout kidneys compared to wildtype littermates.

One of the downregulated genes due to ischemia/reperfusion injury was *Kl* (Fig 5C). The expression of *Kl* was higher in ischemic BAFF knockout kidneys compared to those of

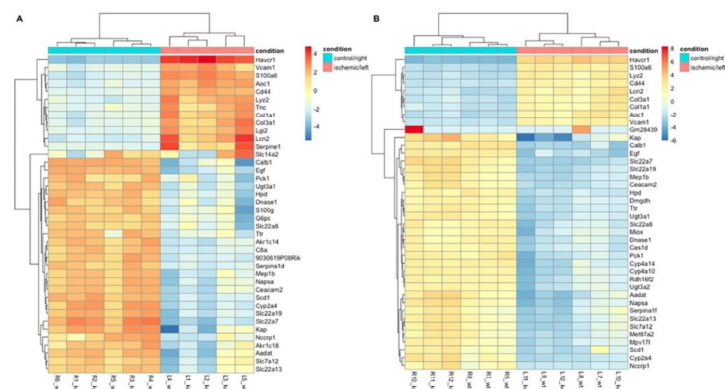


Fig 4. Heatmap visualizing top 40 differentially expressed genes in ischemic versus contralateral kidneys. A) BAFF (B6.129S2-*Tnfsf13b^{tm1Msc/J}*) strain. B) BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c^{tm1Msc/J}*) strain. R: right kidney (contralateral control), L: left kidney (unilateral I/R), ko: knockout, wt: wildtype.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619.g004>

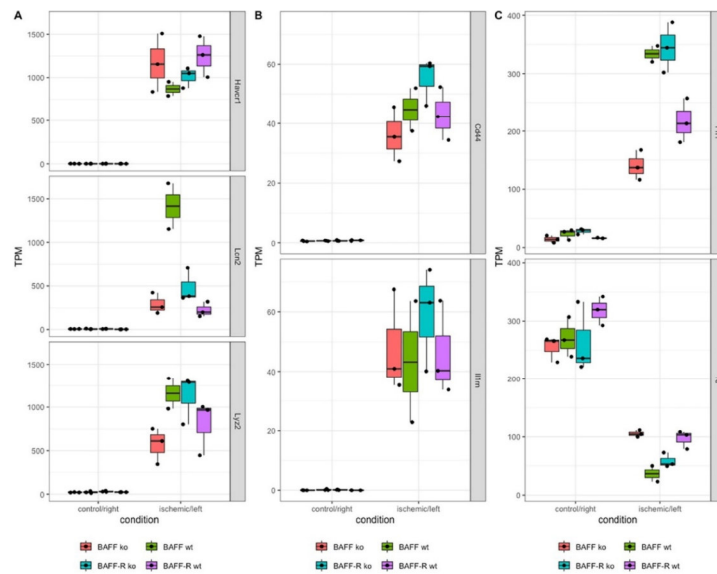


Fig 5. Transcripts per million (TPM) of analyzed genes of ischemic kidneys compared to contralateral control in BAFF (B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Mas/J}) and BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mas/J}) strain, in each case distinguished between knockout (ko) and wildtype (wt) mice. A) Havcr1: Hepatitis A virus cellular receptor 1, Lcn2: Lipocalin-2, Lyz2: Lysozyme 2. B) Cd44: CD44 antigen, Il1rn: Interleukin-1 receptor antagonist. C) Fn1: Fibronectin 1, Kl: Klotho. Each point shows one sample.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619.g005>

wildtype littermates, whereas BAFF-R knockout kidneys showed lower Kl expression than the wildtype. Expression level of Kl in contralateral kidneys was nearly the same, except BAFF-R wildtype kidneys showing slightly higher expression.

Expression of Kl was downregulated in BAFF as well as BAFF-R knockout kidneys after ischemia/reperfusion. But expression level of knockout kidneys was higher compared to wildtype littermates in case of the BAFF strain and lower in BAFF-R strain.

BAFF (*Tnfrsf13b*) expression itself was upregulated in ischemic kidneys (Fig 6). Expression level was higher in BAFF-R knockout kidneys in comparison with the wildtype. With regard to the different receptors of BAFF, no BAFF-R (*Tnfrsf13c*) expression has been observed at all for the majority of mice and only very low transcript counts (2 TPM) in one mouse (Fig 6). Also, no BCMA (*Tnfrsf17*) expression was detected, neither in kidneys of BAFF nor BAFF-R strain, again with the exception of very low number of detected transcripts in one mouse (3 TPM) (Fig 6). Only TACI (*Tnfrsf13b*) was expressed in ischemic kidneys (Fig 6). TACI expression was slightly lower in BAFF knockout compared to wildtype ischemic kidneys. BAFF-R knockout ischemic kidneys showed slightly higher expression level of TACI than wildtype ischemic kidneys.

Discussion

We performed renal unilateral ischemia/reperfusion in BAFF and BAFF-R knockout mice and analyzed the transcriptome of ischemic as well as contralateral kidneys after a reperfusion time of three days in order to get a comprehensive overview of regulated genes involved in the

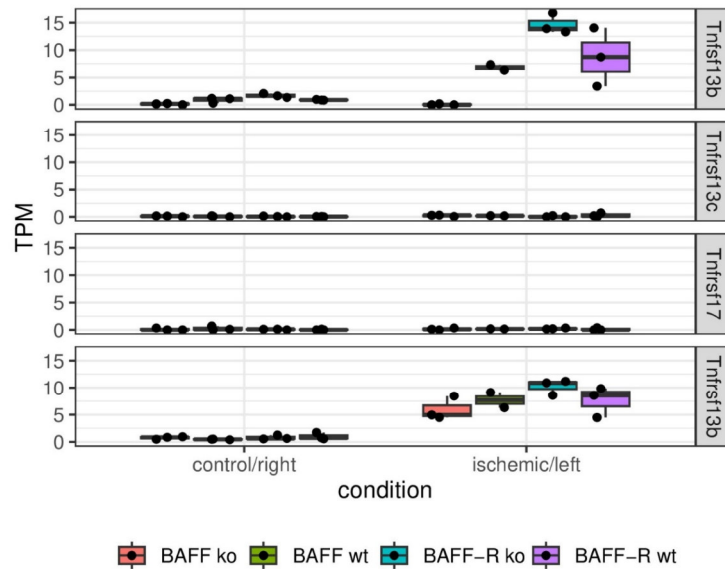


Fig 6. Transcripts per million (TPM) of analyzed genes of ischemic kidneys compared to contralateral control in BAFF (B6.129S2-*Tnfrsf13b^{tm1Msc}/J*) and BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c^{tm1Mas}/J*) strain, in each case distinguished between knockout (ko) and wildtype (wt) mice. Tnfrsf13b: BAFF, Tnfrsf13c: BAFF-R, Tnfrsf17: BCMA, Tnfrsf13b: TACI. Each point shows one sample.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619.g006>

pathophysiology of acute kidney injury. As expected, I/R injury led to an upregulation of the cytokine BAFF, supporting the hypothesis that BAFF is involved in the pathophysiology of AKI. This is in line with several other findings in view of BAFF expression and AKI as well as kidney transplantation [17–22]. Interestingly, BAFF expression seems to be higher in ischemic kidneys of BAFF-R knockout mice compared to wildtype littermates. It is conceivable that missing signaling via BAFF-R enhances BAFF expression. However, not only in BAFF-R knockout kidneys, also in BAFF knockout and wildtype kidneys of both strains there was no BAFF-R expression. This contradicts the assumption of a higher BAFF expression due to the BAFF-R knockout. This finding is consequently only due to the strain differences. BCMA was also not expressed in kidneys of both strains, but TACI. This BAFF receptor was expressed in BAFF knockout as well as wildtype ischemic kidneys at nearly the same level. BAFF-R knockout ischemic kidneys showed slightly higher TACI expression compared to wildtype ischemic kidneys. TACI, overexpressed in patients with chronic antibody-mediated rejection, is discussed as potential biomarker for distinguishing these patients from stable ones [17]. Our finding shows a potential involvement of TACI during the acute phase after I/R injury and therefore eventually a role of TACI in AKI.

The transcriptome analyses revealed four genes, *Havcr1*, *Lcn2*, *Lyz2* and *Cd44*, upregulated in both strains regardless of the genotype. All of them rank among the top 40 differentially expressed genes.

Hepatitis A virus cellular receptor 1 (abbr. and gene name: *Havcr1*), also known as Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1), is a proximal tubule apical transmembrane protein. Under physiological conditions levels of *Havcr1* are low. Increased expression was detected in TEC of

biopsies and urine from patients with acute tubular necrosis [61], 48 hours after unilateral I/R in proximal TECs of rats [62] and correlated with inflammation, fibrosis and renal function [63]. Different studies showed that *Havcr1* is closely linked with AKI [61, 64–69].

As might be expected, *Havcr1* was under the top 40 differentially expressed genes of ischemic kidneys in both mouse strains in our study. In order to compare both strains, we detected a different expression pattern. Expression of *Havcr1* was higher in BAFF knockout than wildtype kidney, but lower in BAFF-R knockout kidneys compared to wildtypes. The different *Havcr1* expression patterns of BAFF and BAFF-R strain are a first indication of a different impact of BAFF and BAFF-R knockout with regard to I/R injury.

Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL, gene name: *Lcn2*) is expressed in different tissues and one of the strongest induced genes after renal I/R [70]. NGAL was identified as a potential biomarker for the initiation phase of acute kidney injury in a genome-wide interrogation strategy to identify renal genes with early induction in animal models [31, 71]. It is upregulated in proximal TECs and distal nephron segments [70] and it is assumed, that damaged TECs express NGAL in order to induce re-epithelialization [72].

In the present data an upregulation of NGAL in ischemic kidneys of both strains is shown. Furthermore, we detected a different expression pattern in the BAFF and BAFF-R strain. The expression level of *Lcn2* was lower in BAFF knockout ischemic kidneys compared to the wildtype, but in case of BAFF-R knockout the *Lcn2* expression was higher compared to ischemic wildtype kidneys. This could be a further indication of a different impact of BAFF and BAFF-R knockout in this I/R model, even if *Lcn2* expression pattern of both strain is the exact opposite of the detected *Havcr1* expression pattern.

Lysozyme (gene name: *Lyz*, in this study examined: *Lyz2*) is in its function as a bacteriolytic enzyme an important component of the innate immune system. In 1964 the study of Prockop and Davidson [73] was the first attempt to correlate urinary lysozyme excretion with its serum levels and parameters of renal function. The study also examined the effect of glomerular or tubular damage on lysozyme excretion and led to the assumption, that lysozymuria may be a useful indicator of renal tubular damage and serves as a diagnostic as well as prognostic tool [73]. Alterations in urine and serum levels of lysozyme were detected in acute renal failure [74]. Up to 1988 several publications discussed the occurrence and role of lysozyme in context of renal (transplant) damage and failure, also in view of suitability as diagnostic marker [75–83]. First report, that lysozyme, intravenously infused into male rats, induced functional as well as structural alterations and finally caused acute renal failure was presented by Cojoel *et al.* [84]. In 2009 a case report by Patel *et al.* [85] reminded of the nephrotoxic effect of lysozyme and kidney failure as common feature in hematological malignancies, especially chronic myelomonocytic leukemia (CMML). Overproduction of lysozyme by tumoral cells in CMML patients causes acute kidney injury based on lysozyme-induced proximal tubular damage [86–88]. In spite of all these findings in almost 60 years and a huge gap since the 90's, lysozyme seems to have been forgotten as potential early biomarker in acute kidney injury. In case of chronic kidney disease (CKD), lysozyme was measured among other CKD-associated plasma proteins in a multiple reaction monitoring (MRM) mass spectrometry (MS) assay in order to determine their association with kidney function and disease outcome [89].

To our knowledge, this study is the first report of upregulated *Lyz2* expression in a murine ischemia/reperfusion model of the kidneys.

In addition, not only the expression of Lysozyme 2 was detected in knockout as well as wildtype ischemic kidneys of both strains, but also a difference in expression level due to BAFF and BAFF-R knockout was investigated. Lysozyme 2 expression was lower in case of BAFF knockout, while BAFF-R knockout kidneys showed higher expression levels compared to their respective wildtype littermates. This finding is comparable to the results for *Lcn2* expression.

CD44 is a glycoprotein important for cellular migration, adhesion and interepithelial cell interactions [90–92]. Upregulation of CD44 expression in glomeruli and TEC is shown in case of inflammatory and autoimmune driven renal diseases [93–96]. Furthermore, expression levels are increased in the early phase after I/R injury [97] and renal damage is caused by the contribution of CD44 to the migration of neutrophils into postischemic kidneys [98].

In our study, the expression of Cd44 was lower in BAFF knockout than wildtype kidneys, but higher in BAFF-R knockout kidneys compared to wildtypes. This is in line with the results of Lcn2 and Lyz2 expression.

We also investigated the expression pattern of the further upregulated gene Fn1 in ischemic compared to contralateral kidneys. Fibronectin 1 (gene name: Fn1) is a glycoprotein which is involved in cellular adhesion, growth and angiogenesis [reviewed in 99]. For the I/R model of the heart is shown, that Fibronectin 1 is upregulated and its inhibition leads to a reduction of myocardial infarct size. Myocyte apoptosis, inflammation, oxidative stress and fibrosis were ameliorated [100].

The present study has shown, that Fibronectin 1 is upregulated in ischemic kidneys of knockout and wildtype mice of B6.129S2-*Tnfrsf13b^{tm1Msc}/J* and B6(Cg)-*Tnfrsf13c^{tm1Mass}/J* strains. As already shown for Lcn2, Lyz2 and Cd44, there is also a different expression pattern for Fn1 in BAFF and BAFF-R knockout ischemic kidneys compared to the corresponding wildtypes. Fn1 expression was lower in BAFF knockout than wildtype, but higher in BAFF-R knockout compared to wildtype mice.

Binding of the Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RA, gene name: Il1rn) to the Interleukin-1 receptor (IL-1R) inhibits signaling of Interleukin-1 (IL-1), which contributes to inflammation and apoptosis [101, 102]. It is shown that the administration of recombinant IL-1ra attenuates renal I/R injury [103].

With regard to ischemic kidneys, BAFF knockout showed slightly lower Il1rn expression levels compared to the wildtype, whereas expression of Il1rn was higher in BAFF-R knockout compared to wildtypes. Results are comparable with expression pattern of Lcn2, Lyz2, Cd44 and Fn1.

Finally, we investigated the expression of one of the downregulated genes called Kl in both strains. Kidneys exhibit the highest expression levels of α -Klotho and seems to be the main source of soluble Klotho in circulation [104]. α -Klotho regulates the calcium and phosphate transport in kidneys and acts as a co-receptor for Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) [105, 106]. In general, levels of α -Klotho are low during AKI [107, 108]. Kidney damage is caused by renal apoptosis and calcification in order to a loss of α -Klotho [109]. In ischemia/reperfusion injury α -Klotho levels decrease [108, 110].

In our study we confirmed the finding of α -Klotho reduction after I/R injury in ischemic kidneys of both strains compared to contralateral controls. Interestingly, the observed expression pattern in case of Lcn2, Lyz2, Cd44, Fn1 and Il1rn was also shown for Kl in BAFF and BAFF-R knockout ischemic kidneys in opposite manner. Expression of Kl was higher in BAFF knockout ischemic compared to wildtype kidneys, but lower in BAFF-R knockout compared to wildtype kidneys. Therefore, in case of all six differentially expressed genes Lcn2, Lyz2, Cd44, Fn1, Il1rn and Kl the same expression pattern for BAFF and BAFF-R knockout was observed, which supports the cautious assumption that the knockout of BAFF and BAFF-R has an impact on I/R injury and thereby maybe a different effect.

Overall, the study reveals a uniform pattern for BAFF and BAFF-R knockout with regard to the expression levels of the genes Lcn2, Lyz2, Cd44, Fn1, Il1rn and Kl, which were studied in more detail. In case of upregulated genes Lcn2, Lyz2, Cd44, Fn1 and Il1rn their expression levels were higher in BAFF-R knockout and lower in BAFF knockout ischemic kidneys compared to wildtype littermates. The expression level of the downregulated gene Kl was lower in

BAFF-R knockout and higher in BAFF knockout kidneys after I/R compared to wildtype littermates. This leads to the assumption that damage induced by ischemia/reperfusion is reduced in BAFF knockout mice, but enlarged in BAFF-R knockout. Thus, it could be speculated that the cytokine BAFF may have a negative effect on kidneys undergoing I/R. Based on the findings for the BAFF-R knockout there must be another signaling pathway for BAFF distinct from BAFF-R. BAFF may signal via BCMA or TACI. In our analyses no expression of BCMA could be detected. This indicates that signaling of BAFF via TACI may play a role in this I/R model. In addition, renal injury seems to be increased in BAFF-R knockout compared to wildtype littermates. If BAFF does not signal via BAFF-R, extent of damage must be the same in BAFF-R knockout and wildtype mice. A possible explanation is the signaling of BAFF via different receptors with contrary effects. BAFF could possibly signal via BAFF-R and thereby mediates positive effects. This would explain why wildtype ischemic kidneys show less damage than BAFF-R knockout ischemic kidneys. It is conceivable that BAFF has an ambivalent role in AKI induced by I/R injury.

At first sight it seems to be contradictory to assume a positive effect of BAFF knockout and a negative one for BAFF-R knockout with regard to I/R injury even though *Havcr1* expression is higher in BAFF knockout and lower BAFF-R knockout compared to their respective wildtype littermates. However, it is not possible to deduce the effect of both knockouts from *Havcr1* expression levels. We can detect the expression level in our study, but exact impact of *Havcr1* upregulation in this I/R model remains unclear due to the versatile function of KIM-1 in renal tubular damage. It is known that KIM-1 mediates the phagocytosis of apoptotic cells during AKI and therefore protects kidneys by downregulation of NF- κ B, which leads to a decreased inflammation [111]. Otherwise, KIM-1 activates inflammatory signaling in TEC without an injury stimulus by itself and therefore provokes renal inflammation [112]. Chen *et al.* [113] showed in their study that hypoxia-treated TECs released small extracellular vesicles (sEVs), which were taken up by KIM-1 expressing TEC. KIM-1 can recognize Phosphatidylserine on the surface of sEV and therefore act as a membrane receptor. In this manner tubulointerstitial inflammation induced by hypoxia is amplified [113]. It is not clear which signals decide whether KIM-1 has a protective effect on injured kidneys or not. Without knowing the exact signaling of KIM-1 in our study, the higher expression of *Havcr1* in BAFF knockout compared to wildtype ischemic kidneys cannot be finally assessed. If we assume that KIM-1 had a protective function in our I/R model, BAFF knockout would enforce this positive impact compared to wildtype littermates and BAFF-R knockout would reduce it. This would be in line with our remaining findings.

Nevertheless, based on this initial study, further investigations with larger sample sizes are needed to rule out that present findings are not only explained by strain differences and that detection is not restricted to the RNA level and therefore be also detectable on protein level. In addition, only female mice were analyzed in this study. Therefore, it must be considered that female hormone cycle effected the revealed results. As an initial assessment we analyzed the expression of the key molecules along the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in our samples and observed no expression or only low transcript counts (S2 Fig). We therefore argue, that the identified RNA abundance, if not only background, is too low to play any meaningful role. Thus, female hormone levels do not seem to be the predominant factors in biasing the results of this study. Furthermore, it is not clear why the expression pattern of the approved biomarker *Havcr1* is the exact opposite of the identical expression pattern of *Lcn2*, *Lyz2*, *Cd44*, *Fn1*, *Il1rn* and *Kl* in both strains and consequently what does it mean for the effect of BAFF and BAFF-R knockout in I/R injury. We have no clear causal link between upregulated *Havcr1* expression and BAFF knockout.

Conclusion

We can summarize that in case of all well-established as well as potential early I/R biomarker an up- or downregulation was detected in ischemic kidneys of both strains. Furthermore, upregulation of *Lcn2*, *Lyz2*, *Cd44*, *Fn1* and *Il1rn* as well as downregulation of *Kl* were higher in case of BAFF-R knockout and lower in BAFF knockout compared to corresponding wild-type littermates in a consistent manner. This leads to the assumption that BAFF knockout has a positive effect on kidneys undergoing I/R, while BAFF-R knockout worsened the renal damage after I/R. Against the background that BAFF KO mice analyzed in this study are immunodeficient with a significant loss of mature B cells and attenuated T cell-dependent as well as T cell-independent antibody response, assumed positive effect of BAFF knockout in case of I/R injury seems to have a strong connection with immunological signaling. Therefore, it would be interesting to compare the results of this unilateral, not systemic renal damage model with renal injury provoked by an inflammatory and systemic stimulus in future investigations. It is additionally worth to point out the remarkable Lysozyme 2 expression in ischemic kidneys of both strains. Further studies should be addressed to investigate a potential use of Lysozyme as predictive and early biomarker for AKI.

Supporting information

S1 Fig. Principal component analysis (PCA) of ischemic and contralateral control kidneys. BAFF (B6.129S2-*Tnfrsf13b^{tm1Msc/J}*) and BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c^{tm1Mass/J}*) strain. (TIF)

S2 Fig. Transcripts per million (TPM) of genes along hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Analyzed in ischemic kidneys compared to contralateral control in BAFF (B6.129S2-*Tnfrsf13b^{tm1Msc/J}*) and BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c^{tm1Mass/J}*) strain, in each case distinguished between knockout (ko) and wildtype (wt) mice. *Esr1*: estrogen receptor 1, *Pgr*: progesterone receptor, *Lhb*: luteinizing hormone subunit beta, *Fshb*: follicle stimulating hormone subunit beta, *Cga*: glycoprotein hormones alpha chain, *Fshr*: follicle stimulating hormone receptor. (TIF)

S1 File. This file contains all differentially expressed genes with adjusted p-value < 0.05 and log2foldchange > 1, < -1 resp. File named 'DE_results_filtered' and is additionally available at <https://github.com/sebboegel/moeckel2022>. (CSV)

Acknowledgments

We thank Dr. Sven-Ernö Bikár and his staff at StarSEQ for excellent support of RNA sequencing. Furthermore, we thank the animal caretakers for great cooperation. Fig 1 was created with BioRender.com. Published data and results are part of the doctoral thesis of Tamara Möckel.

Author Contributions

Conceptualization: Tamara Möckel, Andreas Schwarting.

Data curation: Sebastian Boegel.

Formal analysis: Sebastian Boegel.

Investigation: Tamara Möckel.

Methodology: Tamara Möckel.

Project administration: Tamara Möckel, Andreas Schwarting.

Resources: Tamara Möckel, Andreas Schwarting.

Software: Sebastian Boegel.

Supervision: Andreas Schwarting.

Validation: Tamara Möckel, Sebastian Boegel.

Visualization: Tamara Möckel, Sebastian Boegel.

Writing – original draft: Tamara Möckel.

Writing – review & editing: Tamara Möckel, Sebastian Boegel, Andreas Schwarting.

References

1. Schneider P, MacKay F, Steiner V, Hofmann K, Bodmer J-L, Holler N et al. BAFF, a Novel Ligand of the Tumor Necrosis Factor Family, Stimulates B Cell Growth. *The Journal of Experimental Medicine*. 1999; 189(11):1747–56. <https://doi.org/10.1084/jem.189.11.1747> PMID: 10359578
2. Moore PA, Belvedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P et al. BLYS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science*. 1999; 285(5425):260–3. <https://doi.org/10.1126/science.285.5425.260> PMID: 10398604
3. Möckel T, Basta F, Weinmann-Menke J and Schwarting A. B cell activating factor (BAFF): Structure, functions, autoimmunity and clinical implications in Systemic Lupus Erythematosus (SLE). *Autoimmun Rev*. 2021; 20(2):102736. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102736> PMID: 33333233
4. Vincent FB, Saulep-Easton D, Figgitt WA, Fairfax KA and Mackay F. The BAFF/APRIL system: emerging functions beyond B cell biology and autoimmunity. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2013; 24(3):203–15. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2013.04.003> PMID: 23684423
5. Cosman D. A family of ligands for the TNF receptor superfamily. *STEM CELLS*. 1994; 12(5):440–55. <https://doi.org/10.1002/stem.5530120501> PMID: 7528588
6. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood*. 2001; 97(1):198–204. <https://doi.org/10.1182/blood.v97.1.198> PMID: 11133761
7. Ng LG, Sutherland APR, Newton R, Qian F, Cachero TG, Scott ML et al. B Cell-Activating Factor Belonging to the TNF Family (BAFF)-R Is the Principal BAFF Receptor Facilitating BAFF Costimulation of Circulating T and B Cells. *The Journal of Immunology*. 2004; 173(2):807–17. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.2.807> PMID: 15240667
8. Thompson JS, Bixler SA, Qian F, Vora K, Scott ML, Cachero TG et al. BAFF-R, a Newly Identified TNF Receptor That Specifically Interacts with BAFF. *Science*. 2001; 293(5537):2108–11. <https://doi.org/10.1126/science.1061965> PMID: 11509692
9. Yan M, Brady JR, Chan B, Lee WP, Hsu B, Harless S et al. Identification of a novel receptor for B lymphocyte stimulator that is mutated in a mouse strain with severe B cell deficiency. *Current Biology*. 2001; 11(19):1547–52. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(01\)00481-x](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(01)00481-x) PMID: 11591325
10. Avery DT, Kalled SL, Elyard JI, Ambrose C, Bixler SA, Thien M et al. BAFF selectively enhances the survival of plasmablasts generated from human memory B cells. *The Journal of clinical investigation*. 2003; 112(2):286–97. <https://doi.org/10.1172/JCI18025> PMID: 12865416
11. O'Connor BP, Raman VS, Erickson LD, Cook WJ, Weaver LK, Ahonen C et al. BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. *Journal of Experimental Medicine*. 2004; 199(1):91–8. <https://doi.org/10.1084/jem.20031330> PMID: 14707116
12. Seshasayee D, Valdez P, Yan M, Dixit VM, Tumas D and Grewal IS. Loss of TACI causes fatal lymphoproliferation and autoimmunity, establishing TACI as an inhibitory BLYS receptor. *Immunity*. 2003; 18(2):279–88. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(03\)00025-6](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(03)00025-6) PMID: 12594954
13. Shulga-Morskaya S, Dobles M, Walsh ME, Ng LG, MacKay F, Rao SP et al. B cell-activating factor belonging to the TNF family acts through separate receptors to support B cell survival and T cell-independent antibody formation. *The Journal of Immunology*. 2004; 173(4):2331–41. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.4.2331> PMID: 15294946
14. von Bülow G-U, van Deursen JM and Bram RJ. Regulation of the T-independent humoral response by TACI. *Immunity*. 2001; 14(5):573–82. [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(01\)00130-3](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(01)00130-3) PMID: 11371359

15. Yan M, Wang H, Chan B, Roose-Girma M, Erickson S, Baker T et al. Activation and accumulation of B cells in TACI-deficient mice. *Nature immunology*. 2001; 2(7):638. <https://doi.org/10.1038/89790> PMID: 11429549
16. Vigolo M, Chambers MG, Willen L, Chevalley D, Maskos K, Lammens A et al. A loop region of BAFF controls B cell survival and regulates recognition by different inhibitors. *Nature communications*. 2018; 9(1):1–15.
17. Afzali S, Salehi S, Shahi A, Esmaeili M, Farashi Bonab S, Peykari A et al. Investigating the Role of BAFF and Its Receptors in Renal Transplant Recipients with Chronic Antibody-Mediated Rejection. *Journal of Immunology Research*. 2021; 2021:6654992. <https://doi.org/10.1155/2021/6654992> PMID: 33748289
18. Banham G, Prezzi D, Harford S, Taylor CJ, Hamer R, Higgins R et al. Elevated pretransplantation soluble BAFF is associated with an increased risk of acute antibody-mediated rejection. *Transplantation*. 2013; 96(4):413. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e318298dd65> PMID: 23842189
19. Thaunat O, Patey N, Gautreau C, Lechaton S, Fremeaux-Bacchi V, Dieu-Nosjean M-C et al. B cell survival in intra-graft tertiary lymphoid organs after rituximab therapy. *Transplantation*. 2008; 85(11):1648–53. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181735723> PMID: 18551073
20. Thibault-Espitia A, Foucher Y, Danger R, Migone T, Pallier A, Castagnet S et al. BAFF and BAFF-R levels are associated with risk of long-term kidney graft dysfunction and development of donor-specific antibodies. *American Journal of Transplantation*. 2012; 12(10):2754–62. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2012.04194.x> PMID: 22883025
21. Xu H, He X, Sun J, Shi D, Zhu Y and Zhang X, editors. The expression of B-cell activating factor belonging to tumor necrosis factor superfamily (BAFF) significantly correlated with C4D in kidney allograft rejection. *Transplantation proceedings*; 2009: Elsevier.
22. Ye Q, Wang L, Wells AD, Tao R, Han R, Davidson A et al. BAFF binding to T cell-expressed BAFF-R costimulates T cell proliferation and alloresponses. *European journal of immunology*. 2004; 34(10):2750–9. <https://doi.org/10.1002/eji.200425198> PMID: 15368291
23. Rovcanin B, Medic B, Kocic G, Cebovic T, Ristic M and Prostran M. Molecular dissection of renal ischemia-reperfusion: oxidative stress and cellular events. *Current medicinal chemistry*. 2016; 23(19):1965–80. <https://doi.org/10.2174/0929867323666160112122858> PMID: 26758795
24. Molitoris B. The potential role of ischemia in renal disease progression. *Kidney international Supplement*. 1992; 36:S21–S5. PMID: 1319522
25. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Investig Med*. 1994; 42(4):632–9. PMID: 8521026
26. Volti GL, Rodella L, Di Giacomo C, Rezzani R, Bianchi R, Borsani E et al. Role of carbon monoxide and biliverdin in renal ischemia/reperfusion injury. *Nephron Experimental nephrology*. 2006; 104(4):e135–e9. <https://doi.org/10.1159/000094964> PMID: 16902317
27. Thadhani R, Pascual M and Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med*. 1996; 334(22):1448–60. <https://doi.org/10.1056/NEJM199605303342207> PMID: 8618585
28. Weight S, Bell P and Nicholson M. Renal ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery*. 1996; 83(2):162–70. PMID: 8689154
29. Padanilam BJ. Cell death induced by acute renal injury: a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2003; 284(4):F608–F27. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00284.2002> PMID: 12620919
30. Venkatachalam MA, Bernard DB, Donohoe JF and Levinsky NG. Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: differences among the S1, S2, and S3 segments. *Kidney Int*. 1978; 14(1):31–49. <https://doi.org/10.1038/ki.1978.87> PMID: 682423
31. Supavekin S, Zhang W, Kucherlapati R, Kaskel FJ, Moore LC and Devarajan P. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. *Kidney international*. 2003; 63(5):1714–24. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00928.x> PMID: 12675847
32. Edelstein CL, Ling H and Schrier RW. The nature of renal cell injury. *Kidney international*. 1997; 51(5):1341–51. <https://doi.org/10.1038/ki.1997.183> PMID: 9150442
33. DuBose TD, Warnock DG, Mehta RL, Bonventre JV, Hammerman MR, Molitoris BA et al. Acute renal failure in the 21st century: Recommendations for management and outcomes assessment. *American Journal of Kidney Diseases*. 1997; 29(5):793–9. [https://doi.org/10.1016/s0272-6386\(97\)90136-0](https://doi.org/10.1016/s0272-6386(97)90136-0) PMID: 9159318
34. Koning OH, Ploeg RJ, van Bockel JH, Groenewegen M, van der Woude FJ, Persijn GG et al. Risk factors for delayed graft function in cadaveric kidney transplantation: a prospective study of renal function and graft survival after preservation with University of Wisconsin solution in multi-organ donors.

- European Multicenter Study Group. *Transplantation*. 1997; 63(11):1620–8. <https://doi.org/10.1097/00007890-199706150-00015> PMID: 9197357
35. Lu CY, Penfield JG, Kielar ML, Vazquez MA and Jeyarajah DR. Hypothesis: is renal allograft rejection initiated by the response to injury sustained during the transplant process? *Kidney Int*. 1999; 55(6):2157–68. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1999.00491.x> PMID: 10354265
 36. Ojo AO, Wolfe RA, Held PJ, Port FK and Schumouder RL. DELAYED GRAFT FUNCTION: RISK FACTORS AND IMPLICATIONS FOR RENAL ALLOGRAFT SURVIVAL. *Transplantation*. 1997; 63(7).
 37. Burne-Taney MJ, Ascon DB, Daniels F, Racusen L, Baldwin W and Rabb H. B Cell Deficiency Confers Protection from Renal Ischemia Reperfusion Injury. *The Journal of Immunology*. 2003; 171(6):3210. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.6.3210> PMID: 12960350
 38. Renner B, Strassheim D, Amura CR, Kulik L, Ljubanovic D, Glogowska MJ et al. B cell subsets contribute to renal injury and renal protection after ischemia/reperfusion. *The Journal of Immunology*. 2010; 185(7):4393–400. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903239> PMID: 20810984
 39. Jang HR, Gandolfo MT, Ko GJ, Satpute SR, Racusen L and Rabb H. B cells limit repair after ischemic acute kidney injury. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2010; 21(4):654–65. <https://doi.org/10.1681/ASN.2009020182> PMID: 20203156
 40. Holderied A, Kraft F, Marschner JA, Weidenbusch M and Anders H-J. "Point of no return" in unilateral renal ischemia reperfusion injury in mice. *Journal of biomedical science*. 2020; 27(1):1–15.
 41. Steines L, Poth H, Schuster A, Geissler EK, Amann K, Banas B et al. Anti-BAFF treatment interferes with humoral responses in a model of renal transplantation in rats. *Transplantation*. 2020; 104(1):e16–e22. <https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002992> PMID: 31609901
 42. Assadiasl S, Shahi A, Salehi S, Afzali S and Amirzargar A. Interferon regulatory factors: Where to stand in transplantation. *Transplant Immunology*. 2018; 51:76–80. <https://doi.org/10.1016/j.trim.2018.10.001> PMID: 30336215
 43. Karahan GE, Claas FH and Heidt S. B cell immunity in solid organ transplantation. *Frontiers in immunology*. 2017; 7:686. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00686> PMID: 28119695
 44. Xu H, He X and Xu R. B cell activating factor, renal allograft antibody-mediated rejection, and long-term outcome. *Journal of Immunology Research*. 2018; 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5251801> PMID: 29977928
 45. Gondos A, Döhler B, Brenner H and Opelz G. Kidney graft survival in Europe and the United States: strikingly different long-term outcomes. *Transplantation*. 2013; 95(2):267–74. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3182708ea8> PMID: 23060279
 46. Sellarés J, De Freitas D, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *American Journal of Transplantation*. 2012; 12(2):388–99. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03840.x> PMID: 22081892
 47. Hoffman W, Lakkis FG and Chalasani G. B cells, antibodies, and more. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2016; 11(1):137–54. <https://doi.org/10.2215/CJN.09430915> PMID: 26700440
 48. Xu H, He X, Liu Q, Shi D, Chen Y, Zhu Y et al., editors. Abnormal high expression of B-cell activating factor belonging to the TNF superfamily (BAFF) associated with long-term outcome in kidney transplant recipients. *Transplantation proceedings*; 2009: Elsevier.
 49. Burness CB and McCormack PL. Belimumab: in systemic lupus erythematosus. *Drugs*. 2011; 71(18):2435–44. <https://doi.org/10.2165/11208440-000000000-00000> PMID: 22141386
 50. Levy RA, Gonzalez-Rivera T, Khamashta M, Fox NL, Jones-Leone A, Rubin B et al. 10 Years of belimumab experience: What have we learnt? *Lupus*. 2021; 30(11):1705–21. <https://doi.org/10.1177/09612033211028653> PMID: 34238087
 51. Liu T, Neuner R, Thompson A, Pottackal G, Petullo D, Liu J et al. Clinical pharmacology considerations for the approval of belimumab for the treatment of adult patients with active lupus nephritis: A regulatory perspective. *Lupus*. 2022; 31(4):424–32. <https://doi.org/10.1177/09612033221079771> PMID: 35238725
 52. Gorelik L, Gilbride K, Dobles M, Kalled SL, Zandman D and Scott ML. Normal B cell homeostasis requires B cell activation factor production by radiation-resistant cells. *The Journal of experimental medicine*. 2003; 198(6):937–45. <https://doi.org/10.1084/jem.20030789> PMID: 12975458
 53. Schiemann B, Gommerman JL, Vora K, Cachero TG, Shulga-Morskaya S, Dobles M et al. An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA-independent pathway. *Science*. 2001; 293(5537):2111–4. <https://doi.org/10.1126/science.1061964> PMID: 11509691
 54. Sasaki Y, Casola S, Kutok JL, Rajewsky K and Schmidt-Suppran M. TNF family member B cell-activating factor (BAFF) receptor-dependent and-independent roles for BAFF in B cell physiology. *The*

- Journal of Immunology. 2004; 173(4):2245–52. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.4.2245> PMID: 15294936
55. Guedel AE. Inhalation Anesthesia: A Fundamental Guide. *Anesthesia & Analgesia*. 1937; 16(2):119–20.
 56. Bray NL, Pimentel H, Melsted P and Pachter L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature Biotechnology*. 2016; 34(5):525–7. <https://doi.org/10.1038/nbt.3519> PMID: 27043002
 57. Love MI, Huber W and Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*. 2014; 15(12):550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8> PMID: 25516281
 58. Benjamini Y and Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*. 1995; 57(1):289–300.
 59. Blighe KR, Sharmila; Lewis Myles. EnhancedVolcano: Publication-ready volcano plots with enhanced colouring and labeling. 2022 [Available from: <https://github.com/kevinblighe/EnhancedVolcano>].
 60. Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*: Springer International Publishing; 2016.
 61. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R and Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney international*. 2002; 62(1):237–44. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00433.x> PMID: 12081583
 62. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *Journal of Biological Chemistry*. 1998; 273(7):4135–42. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.7.4135> PMID: 9461608
 63. van Timmeren MM, van den Heuvel MC, Bailly V, Bakker SJ, van Goor H and Stegeman CA. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *The Journal of pathology*. 2007; 212(2):209–17. <https://doi.org/10.1002/path.2175> PMID: 17471468
 64. Arthur JM, Hill EG, Alge JL, Lewis EC, Neely BA, Janech MG et al. Evaluation of 32 urine biomarkers to predict the progression of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney International*. 2014; 85(2):431–8. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.333> PMID: 24005224
 65. Han WK, Wagener G, Zhu Y, Wang S and Lee HT. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2009; 4(5):873–82.
 66. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18(3):904–12. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006030221> PMID: 17267747
 67. Sabbiseti VS, Waikar SS, Antoine DJ, Smiles A, Wang C, Ravisankar A et al. Blood kidney injury molecule-1 is a biomarker of acute and chronic kidney injury and predicts progression to ESRD in type 1 diabetes. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2014; 25(10):2177–86. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013070758> PMID: 24904085
 68. Shao X, Tian L, Xu W, Zhang Z, Wang C, Qi C et al. Diagnostic value of urinary kidney injury molecule 1 for acute kidney injury: a meta-analysis. *PLoS one*. 2014; 9(1):e84131. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084131> PMID: 24404151
 69. Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA and Bonventre JV. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2006; 290(2):F517–F29. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00291.2005> PMID: 16174863
 70. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2003; 14(10):2534–43. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000088027.54400.c6> PMID: 14514731
 71. Devarajan P, Mishra J, Supavekin S, Patterson LT and Potter SS. Gene expression in early ischemic renal injury: clues towards pathogenesis, biomarker discovery, and novel therapeutics. *Molecular genetics and metabolism*. 2003; 80(4):365–76. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2003.09.012> PMID: 14654349
 72. Yang J, Goetz D, Li J-Y, Wang W, Mori K, Setlik D et al. An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Molecular cell*. 2002; 10(5):1045–56. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(02\)00710-4](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(02)00710-4) PMID: 12453413

73. Prockop DJ and Davidson WD. A study of urinary and serum lysozyme in patients with renal disease. *New England Journal of Medicine*. 1964; 270(6):269–74. <https://doi.org/10.1056/NEJM196402062700602> PMID: 14074651
74. Noble RE and Brainerd HD. Urine and serum lysozyme alterations in a case of acute renal failure. *J Urol*. 1966; 96(6):852–3. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)63364-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)63364-0) PMID: 5956763
75. Coratelli P, Giannattasio M, Schena A, Marzolla R and Buongiorno E. Comparison of urinary enzyme pattern in renal transplant recipients receiving two different immunosuppressive regimens: azathioprine versus ciclosporin. *Contrib Nephrol*. 1988; 68:203–6. <https://doi.org/10.1159/000416514> PMID: 2906846
76. Ellis L, McSwiney RR and Tucker SM. Urinary excretion of lysozyme and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in the diagnosis of renal allograft rejection. *Ann Clin Biochem*. 1978; 15(5):253–60. <https://doi.org/10.1177/000456327801500161> PMID: 363032
77. Horpacsy G, Zinsmeyer J and Mebel M. Continuous determination of various enzymes and sodium concentration in urine. a usable method for diagnosis of kidney graft rejection. *Eur Urol*. 1978; 4(5):334–7. <https://doi.org/10.1159/000473988> PMID: 710463
78. Klockars M, Reitamo S and Collan Y. Immunohistochemical identification of renal lysozyme during allograft rejection in man. *Histopathology*. 1979; 3(5):433–43. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1979.tb03024.x> PMID: 385474
79. Matturri L, Ghidoni P, Palazzi P and Stasi P. Renal allograft rejection: immunohistochemistry of inflammatory cellular subsets and vascular lesions. *Basic Appl Histochem*. 1986; 30(2):267–77. PMID: 2427064
80. Niwa T, Ito T, Matsui E and Ota H. Serum and urinary lysozyme activities in patients with renal diseases. *Tohoku J Exp Med*. 1974; 114(1):27–33. <https://doi.org/10.1620/tjem.114.27> PMID: 4432241
81. Roberts JL and Lewis EJ. Serum and urine beta-2-microglobulin and lysozyme concentrations in transplant rejection. *Proc Clin Dial Transplant Forum*. 1979; 9:145–9. PMID: 95329
82. Schmidt P, Kopsa H, Balcke P, Zazgornik J, Pils P and Hysek H. [Behaviour of serum and urinary lysozyme after renal transplantation (author's transl)]. *Wien Klin Wochenschr*. 1977; 89(7):238–42.
83. Shehadeh IH, Carpenter CB, Monterio CH and Merrill JP. Renal allograft rejection. An analysis of lysozymuria, serum complement, lymphocyturia, and heterophil antibodies. *Arch Intern Med*. 1970; 125(5):850–7. <https://doi.org/10.1001/archinte.125.5.850> PMID: 4192146
84. Cojocel C, Docu N and Baumann K. Early nephrotoxicity at high plasma concentrations of lysozyme in the rat. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*. 1982; 46(2):149–57. PMID: 7062720
85. Patel TV, Renne HG, Sloan JM, DeAngelo DJ and Charytan DM. A forgotten cause of kidney injury in chronic myelomonocytic leukemia. *American journal of kidney diseases*. 2009; 54(1):159–64. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2008.11.013> PMID: 19185401
86. Asano M, Hase H, Naruse Y, Kawada K, Kojima I, Branch J et al. A rare cause of acute kidney injury with chronic myelomonocytic leukemia. *CEN Case Reports*. 2021; 10(3):320–5. <https://doi.org/10.1007/s13730-020-00567-6> PMID: 33403618
87. Hillen J, Raemaekers J, Steenbergen E, Wetzels J and Verhave J. Progressive kidney failure in chronic myelomonocytic leukaemia: don't forget lysozyme damage. *Netherlands J Med*. 2018; 76(9):407–10. PMID: 30465656
88. Robinet-Zimmermann G, Rioux-Leclercq N, Frouget T and Le Naoures C. [Lysozyme-induced nephropathy: A rare cause of renal failure in chronic myelomonocytic leukemia]. *Ann Pathol*. 2020; 40(6):478–82.
89. Makridakis M, Kontostathi G, Petra E, Strogilos R, Lygirou V, Filip S et al. Multiplexed MRM-based protein quantification of putative prognostic biomarkers for chronic kidney disease progression in plasma. *Scientific Reports*. 2020; 10(1):4815. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61496-z> PMID: 32179759
90. Borland G, Ross JA and Guy K. Forms and functions of CD44. *Immunology*. 1998; 93(2):139–48. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.1998.00431.x> PMID: 9616361
91. Neame SJ and Isacke CM. The cytoplasmic tail of CD44 is required for basolateral localization in epithelial MDCK cells but does not mediate association with the detergent-insoluble cytoskeleton of fibroblasts. *J Cell Biol*. 1993; 121(6):1299–310. <https://doi.org/10.1083/jcb.121.6.1299> PMID: 8509451
92. Sheikh H and Isacke CM. A di-hydrophobic Leu-Val motif regulates the basolateral localization of CD44 in polarized Madin-Darby canine kidney epithelial cells. *J Biol Chem*. 1996; 271(21):12185–90. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.21.12185> PMID: 8647812

93. Benz PS, Fan X and Wüthrich RP. Enhanced tubular epithelial CD44 expression in MRL-lpr lupus nephritis. *Kidney International*. 1996; 50(1):156–63. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.298> PMID: 8807584
94. Florquin S and Rouschop KM. Reciprocal functions of hepatocyte growth factor and transforming growth factor-beta1 in the progression of renal diseases: a role for CD44? *Kidney Int Suppl*. 2003(86): S15–20. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.64.s86.4.x> PMID: 12969122
95. Roy-Chaudhury P, Khong TF, Williams JH, Haites NE, Wu B, Simpson JG et al. CD44 in glomerulonephritis: expression in human renal biopsies, the Thy 1.1 model, and by cultured mesangial cells. *Kidney Int*. 1996; 50(1):272–81. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.312> PMID: 8807598
96. Sibalic V, Fan X, Loffing J and Wüthrich RP. Upregulated renal tubular CD44, hyaluronan, and osteopontin in kdkd mice with interstitial nephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 1997; 12(7):1344–53. <https://doi.org/10.1093/ndt/12.7.1344> PMID: 9249768
97. Lewington AJ, Padanilam BJ, Martin DR and Hammerman MR. Expression of CD44 in kidney after acute ischemic injury in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000; 278(1):R247–54. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.278.1.R247> PMID: 10644646
98. Rouschop KM, Roelofs JJ, Claessen N, da Costa Martins P, Zwaginga JJ, Pals ST et al. Protection against renal ischemia reperfusion injury by CD44 disruption. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16(7):2034–43. <https://doi.org/10.1681/ASN.2005010054> PMID: 15901765
99. Wang Y and Ni H. Fibronectin maintains the balance between hemostasis and thrombosis. *Cellular and molecular life sciences*. 2016; 73(17):3265–77. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2225-y> PMID: 27098513
100. Zhang Y-L, Li P-B, Han X, Zhang B and Li H-H. Blockage of Fibronectin 1 Ameliorates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Association with Activation of AMP-LKB1-AMPK Signaling Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022; 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/6196173> PMID: 35602095
101. Allan SM, Tyrrell PJ and Rothwell NJ. Interleukin-1 and neuronal injury. *Nature Reviews Immunology*. 2005; 5(8):629–40. <https://doi.org/10.1038/nri1664> PMID: 16034365
102. Dripps DJ, Brandhuber BJ, Thompson RC and Eisenberg SP. Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80-kDa IL-1 receptor but does not initiate IL-1 signal transduction. *J Biol Chem*. 1991; 266(16):10331–6. PMID: 1828071
103. Rusai K, Huang H, Sayed N, Strobl M, Roos M, Schmaderer C et al. Administration of interleukin-1 receptor antagonist ameliorates renal ischemia-reperfusion injury. *Transplant International*. 2008; 21(6):572–80. <https://doi.org/10.1111/j.1432-2277.2008.00651.x> PMID: 18363573
104. Olauson H, Mencke R, Hillebrands J-L and Larsson TE. Tissue expression and source of circulating α Klotho. *Bone*. 2017; 100:19–35.
105. Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP et al. Regulation of Fibroblast Growth Factor-23 Signaling by Klotho. *Journal of Biological Chemistry*. 2006; 281(10):6120–3. <https://doi.org/10.1074/jbc.C500457200> PMID: 16436388
106. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*. 2006; 444(7120):770–4. <https://doi.org/10.1038/nature05315> PMID: 17086194
107. Asai O, Nakatani K, Tanaka T, Sakan H, Imura A, Yoshimoto S et al. Decreased renal α -Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion. *Kidney International*. 2012; 81(6):539–47.
108. Hu M-C, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Kuro-o M and Moe OW. Klotho deficiency is an early biomarker of renal ischemia–reperfusion injury and its replacement is protective. *Kidney International*. 2010; 78(12):1240–51. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.328> PMID: 20861825
109. Ohnishi M and Razzaque MS. Dietary and genetic evidence for phosphate toxicity accelerating mammalian aging. *The FASEB Journal*. 2010; 24(9):3562–71. <https://doi.org/10.1096/fj.09-152488> PMID: 20418498
110. Qian Y, Guo X, Che L, Guan X, Wu B, Lu R et al. Klotho reduces necroptosis by targeting oxidative stress involved in renal ischemic-reperfusion injury. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018; 45(6):2268–82. <https://doi.org/10.1159/000488172> PMID: 29550818
111. Yang L, Brooks CR, Xiao S, Sabbisetti V, Yeung MY, Hsiao L-L et al. KIM-1–mediated phagocytosis reduces acute injury to the kidney. *The Journal of clinical investigation*. 2015; 125(4):1620–36. <https://doi.org/10.1172/JCI75417> PMID: 25751064
112. Humphreys BD, Xu F, Sabbisetti V, Grgic I, Naini SM, Wang N et al. Chronic epithelial kidney injury molecule-1 expression causes murine kidney fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2013; 123(9):4023–35. <https://doi.org/10.1172/JCI45361> PMID: 23979159

113. Chen J, Tang T-T, Cao J-Y, Li Z-L, Zhong X, Wen Y et al. KIM-1 augments hypoxia-induced tubulointerstitial inflammation through uptake of small extracellular vesicles by tubular epithelial cells. *Molecular Therapy*. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2022.08.013> PMID: 35982620

5.1.2 Erklärung zum Eigenanteil der Promovendin

Tamara Möckel ist alleinige Erstautorin der Publikation *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice* [67], die unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Andreas Schwarting im Rahmen der kumulativen Dissertation angefertigt wurde. Für die Konzeptualisierung des Projekts, die Projektadministration und die dafür nötigen Ressourcen waren Herr Prof. Dr. Andreas Schwarting und Tamara Möckel gemeinsam zuständig. Den für die Untersuchungen erforderlichen Tierversuchsantrag hat Frau Möckel selbstständig geschrieben und alle dafür relevanten Kommunikationen geführt.

Frau Möckel war seitens der Arbeitsgruppe alleinig für die Haltung und Zucht der entsprechenden Mausstämme in enger Zusammenarbeit mit den Tierpflegern des *Translational Animal Research Center* (TARC) der Universitätsmedizin Mainz zuständig. Sie war für die Versuchsplanung und die daran orientierte Zuchtplanung verantwortlich. Die Planung, Realisierung und Anwendung der Methoden im Rahmen der praktischen Versuchsdurchführung und nachfolgenden Probenbearbeitung wurden von Frau Möckel vorgenommen. Sie hat in ihrer Funktion der Experimentatorin den operativen Eingriff selbstständig durchgeführt, die Mäuse vor, während und nach dem Eingriff seitens der Arbeitsgruppe – neben der Routineversorgung durch die Tierpfleger des TARC – alleinig beaufsichtigt und betreut. Alle hierfür relevanten Dokumentationen sind von Frau Möckel geführt worden.

Sie hat in Bezug auf die in der Publikation dargestellten Ergebnisse die Organentnahme sowie RNA-Isolation durchgeführt, den Probentransport, die Beauftragung der Sequenzierung bei der StarSEQ GmbH in Mainz und den Datentransfer sowie die Datenarchivierung der bioinformatischen Rohdaten organisiert. Frau Möckel hat außerdem die zur Auswertung nötigen Analysen geplant. Die Aufbereitung der bioinformatischen Rohdaten und Analysen wurden von Herrn Dr. Sebastian Boegel durchgeführt. Die dafür nötige Software wurde von ihm ausgewählt und verwendet. Alle zur Auswertung nötigen Datensätze wurden Frau Möckel zur weiteren Bearbeitung zur Verfügung gestellt.

Frau Möckel hat die Daten gesichtet, ausgewertet, interpretiert und in den Kontext der untersuchten akuten Nierenschädigung gesetzt. Die Visualisierungen der Ergebnisse wurden von Frau Möckel erdacht und von Herrn Dr. Boegel umgesetzt. Die in der Publikation verwendete Abbildung **Fig 1** wurde von Frau Möckel mit BioRender.com erstellt. Frau Möckel und Herr Dr. Boegel waren gemeinsam für die Validierung der Ergebnisse zuständig. Anhand der Ergebnisse hat Frau Möckel eigenständig den Manuskript-Entwurf der vorliegenden Publikation erstellt und Herrn Dr. Sebastian Boegel wie Herrn Prof. Dr. Andreas Schwarting zur Revision

vorgelegt. Frau Möckel hat die anschließende Überarbeitung vorgenommen und die finale Fassung des Manuskripts eingereicht. Dabei führte sie bis zur Veröffentlichung die gesamte Kommunikation mit den Gutachtern und dem Journal.

Die Darlegung des Eigenanteils der Promovendin Tamara Möckel an der Publikation *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice* wurde vom Betreuer Herrn Prof. Dr. Andreas Schwarting in der hier vorliegenden Fassung gelesen und bestätigt.

5.2 Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis

Die Publikation *Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis* wurde am 16. Mai 2024 im *International Journal of Molecular Science* veröffentlicht. Nachdem die Untersuchungsergebnisse der ersten Publikation auf einen positiven Effekt des BAFF-Knockouts und somit auf einen Zusammenhang mit immunologischen Signalwegen hindeuteten [67], wurde eine Nierenschädigung, hervorgerufen durch einen immunologischen Reiz, untersucht. Durch die Injektion eines Nephrotoxischen Serums konnte die chronische Phase einer Nierenschädigung in Bezug auf die Rolle von BAFF und des BAFF-R untersucht werden [88]. Transkriptomanalysen der Nieren von BAFF-ko- und BAFF-R-ko-Mäusen wurden im Vergleich zu den Nieren eines Wildtyp-Stamms ausgewertet. Dabei konnten die Expressionsmuster dargestellt und potenzielle, prognostische Biomarker detektiert werden.



Article

Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis

Tamara Möckel ¹ , Sebastian Boegel ¹ and Andreas Schwarting ^{1,2,*}

¹ Division of Rheumatology and Clinical Immunology, Department of Internal Medicine I, University Medical Center of the Johannes Gutenberg University, 55131 Mainz, Germany; tamara.moeckel@unimedizin-mainz.de (T.M.); seb.boegel@gmail.com (S.B.)

² Center for Rheumatic Disease Rhineland-Palatinate GmbH, 55543 Bad Kreuznach, Germany

* Correspondence: schwarting@uni-mainz.de

Abstract: Chronic kidney disease (CKD) is an emerging cause for morbidity and mortality worldwide. Acute kidney injury (AKI) can transition to CKD and finally to end-stage renal disease (ESRD). Targeted treatment is still unavailable. NF- κ B signaling is associated with CKD and activated by B cell activating factor (BAFF) via BAFF-R binding. In turn, renal tubular epithelial cells (TECs) are critical for the progression of fibrosis and producing BAFF. Therefore, the direct involvement of the BAFF/BAFF-R system to the pathogenesis of CKD is conceivable. We performed non-accelerated nephrotoxic serum nephritis (NTN) as the CKD model in BAFF KO (B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Msc}/J), BAFF-R KO (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass}/J) and wildtype (C57BL/6J) mice to analyze the BAFF/BAFF-R system in anti-glomerular basement membrane (GBM) disease using high throughput RNA sequencing. We found that BAFF signaling is directly involved in the upregulation of collagen III as BAFF ko mice showed a reduced expression. However, these effects were not mediated via BAFF-R. We identified several upregulated genes that could explain the effects of BAFF in chronic kidney injury such as *Txnip*, *Gpx3*, *Igfbp7*, *Ccn2*, *Kap*, *Umod* and *Ren1*. Thus, we conclude that targeted treatment with anti-BAFF drugs such as belimumab may reduce chronic kidney damage. Furthermore, upregulated genes may be useful prognostic CKD biomarkers.

Keywords: BAFF; BAFF-R; NTS; NTN; CKD; GN



Citation: Möckel, T.; Boegel, S.;

Schwarting, A. Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 5415. <https://doi.org/10.3390/ijms25105415>

Academic Editor: Takashi Oda

Received: 14 April 2024

Revised: 2 May 2024

Accepted: 7 May 2024

Published: 16 May 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

In general, kidney injuries can be classified into the following two types: acute kidney injury (AKI) and chronic kidney injury (CKD). AKI is associated with bacterial infection, sepsis or ischemia/reperfusion (I/R) injury, whereas CKD is primarily caused by diabetic complications, hypertension, obesity or autoimmunity [1]. Thus, AKI and CKD differ in their initiating events. CKD affects more than 10% of the global population in developed countries [2] and is an emerging cause for morbidity and mortality worldwide as targeted treatment is still unavailable [3–5]. Currently, CKD is defined as abnormalities of kidney function or structure, which is present for more than three months [6] and an estimated glomerular filtration rate (eGFR) less than 60 mL/min/1.73 m² on at least two occasions 90 days apart [7]. According to the GFR level, the severity of CKD is classified into five stages. In the case of a transition to end-stage renal disease (ESRD), patients require renal replacement therapy in the form of lifelong hemodialysis or renal transplantation.

Glomerulonephritis (GN) includes immune-mediated diseases and is characterized by damage to the glomerular compartment of the renal nephrons [8]. Acute GN accompanies hypertension, proteinuria and hematuria, whereas GN with podocyte injury causes nephrotic syndrome with massive proteinuria [9]. Both can lead to CKD and irreversible kidney failure [10,11]. In general, GN can be divided into the following five categories according to Anders et al.: infection-related, autoimmune, alloimmune, autoinflammatory and monoclonal gammopathy-related GN [9]. Autoimmune GN is characterized

by the response of the adaptive immune system against several self-antigens, which can be expressed in the kidney itself or systemically. Lupus nephritis (LN) is a form of autoimmune GN, characterized by the loss of tolerance to chromatin components and other self-antigens [12]. Although several drugs are currently under evaluation in clinical trials, overview given in [9], treatment options are limited and still focused on glucocorticoids to control activity, which are nonspecific and show side effects.

In the context of the progression of renal fibrosis in kidney diseases, the focus was initially on (myo)fibroblasts. In the meantime, several studies showed that tubular epithelial cells (TECs) also play an important role [13]. Furthermore, it is assumed that TECs manage the progression from acute to chronic renal disease [14]. It is shown that in case of mild and transient injury, TECs manage the regeneration and therefore regain the kidney function [15,16]. However, TECs undergo maladaptive repair and thus exacerbate renal fibrosis when injury is severe and persists [16–18]. An overview of the intracellular pathways involved in TECs upon injury and that foster renal fibrosis are summarized in the review of Qi and Yang [19]. There is evidence suggesting that the severity and frequency of TECs injury defines whether repair mechanisms lead to recovery or progression of fibrosis [20]. Nevertheless, the progression of renal fibrosis in CKD is not fully understood so far.

NF- κ B signaling is activated by an increase in inflammatory cytokines and associated with chronic diseases like CKD [21]. In the case of type 2 diabetic nephropathy, the NF- κ B pathway is activated in renal TECs and significantly correlates with interstitial inflammation and proteinuria [22]. In general, an upregulation of NF- κ B is described in many different renal diseases like IgA nephropathy, crescentic GN, LN, minimal change disease and membranous nephropathy [23]. Suppressing NF- κ B with the inhibitor JSH-23 reduces the production of inflammatory cytokines and alleviates renal inflammation [24–26].

The B cell activating factor BAFF activates the non-canonical as well as canonical NF- κ B pathway via BAFF-R binding [27–29] and promotes the activation, differentiation and survival of B cells [30,31]. Therefore, BAFF is a key therapeutic target for several autoimmune diseases [32,33]. Blocking BAFF reduced the glucocorticoid dosage and prevented organ damage in SLE patients [34]. Furthermore, BAFF IgG complexes correlated with disease activity in SLE patients [35]. BAFF plays a role in LN by inducing renal tertiary lymphoid structures (TLSs) and regulating the position of T cells within glomeruli [36]. Renal pathology is associated with elevated BAFF production from cells within kidneys, the renal infiltration of immune cells, and the development of TLSs and glomerular deposits of IgG/C3. Furthermore, patients with proliferative LN can be classified into three different groups; one is the BAFF-dominant group [37]. BAFF and its receptors showed differential expression patterns according to LN classes [38]. Pathological class II of LN kidney biopsies showed tubulointerstitial BAFF and BCMA expression, but no expression of BAFF-R or TACI. For class III biopsies, tubulointerstitial BAFF, BCMA and TACI expression was detected as well as the glomerular expression of BAFF and TACI. The class IV expression pattern of BAFF and TACI was similar to class III, but glomerular BAFF and TACI expression was higher and BAFF-R was expressed interstitial. In the case of class V biopsies, BAFF and BCMA were expressed interstitial as well as glomerular, while TACI was expressed only glomerular and no BAFF-R expression was detected [38]. For IgA nephropathy, it is known that BAFF enhances the expression of fibroblast factors in kidneys by activating the TRAF6/NF- κ B signaling pathway [39]. BAFF activates B cells through the NF- κ B signaling pathway to secrete excess IgA1, which leads to IgA nephropathy-like alterations in mouse kidneys [40]. B cell activation and elevated BAFF levels are present in patients with IgA nephropathy [41,42]. There is considerable evidence that BAFF contributes to the pathogenesis of glomerulonephritis [43]. In patients with glomerulonephritis, BAFF levels are higher, and receptors are increased in the tubulointerstitial area [44].

Renal TECs are critical for the progression of renal fibrosis and produce the cytokine BAFF [45]. Taking into account that BAFF also has regulatory functions, it is conceivable that the BAFF/BAFF-R system is directly involved in the pathogenesis of chronic kidney diseases like GN. With regard to B cell-directed therapies, belimumab, a monoclonal

antibody (mAb) against the B cell activating factor (BAFF), was approved by the FDA firstly as a biologic for adult (2011) and pediatric (2019) SLE patients [46–48] and additionally for adult (2020) and pediatric (2022) LN patients [47].

Against this background, our study was focused on investigating the cytokine BAFF and its receptors during renal fibrosis processes in the CKD model of nephrotoxic serum nephritis (NTN). The underlying model of this study is based on the non-accelerated murine nephrotoxic serum nephritis (NTN) model, which was developed as an acute model of GN [49–52] and evaluated as a CKD model by Ougaard et al. [53]. Pathogenesis is initiated by anti-glomerular IgGs that impair the glomerular filtration barrier and induce proteinuria and inflammation. The advantage of our study is the fact that investigations of the BAFF/BAFF-R system in autoimmune GN were carried out in mice not prone to autoimmunity, which enabled us to focus exclusively on the initiated mechanism of GN.

By using high throughput sequencing and following bioinformatical analyses with well-established *in silico* methods, we tried to identify among the multitude of genes those that have the greatest potential to be evaluated as useful biomarkers in further studies. Furthermore, we generated hypotheses concerning conspicuous genes in fibrotic kidneys relevant for CKD progression and the influence of BAFF as well as BAFF-R knockout for fibrosis progression in kidney disease.

2. Results

In order to evaluate the role of the BAFF/BAFF-R system during the chronic phase of renal fibrosis, a murine CKD model was performed. Therefore, the renal transcriptome of BAFF and BAFF-R knockout (ko) mice was analyzed and compared to mice of a wildtype (wt) strain, 21 days after a single intravenous tail injection of nephrotoxic serum (NTS). A total of 35827 genes were analyzed, thereby 51 up-($\log_2FC \geq 1, p < 0.05$) and 53 downregulated ($\log_2FC \leq -1, p < 0.05$) genes detected in BAFF ko kidneys versus wildtype and 77 up-($\log_2FC \geq 1, p < 0.05$) and 82 downregulated ($\log_2FC \leq -1, p < 0.05$) genes in BAFF-R ko kidneys compared to the wildtype (Figure 1).

Fibrosis marker collagen III (*Col3a1*) was expressed in the kidneys of all three strains (Figure 2). The expression level in the BAFF-R ko (median: 32.5 TPM) and wildtype (median: 35.5 TPM) was similar and higher in comparison to the BAFF ko kidneys (median: 25.5 TPM).

Furthermore, based on the limited knowledge of triggers and predictive biomarkers concerning the turnover of AKI to CKD, sequencing should provide prominently regulated genes as potential markers. Thereby, we identified the following seven genes: *Gpx3*, *Igfbp7*, *Ccn2*, *Kap*, *Umod*, *Ren1* and *Txnip* (Figure 3).

The identified genes *Gpx3*, *Igfbp7* and *Ccn2* showed similar expression levels in BAFF ko (*Gpx3* median: 17698 TPM, *Igfbp7* median: 1630, *Ccn2* median: 46 TPM) and wildtype (*Gpx3* median: 17578 TPM, *Igfbp7* median: 1673, *Ccn2* median: 44.5 TPM) and an upregulation in BAFF-R ko (*Gpx3* median: 20080 TPM, *Igfbp7* median: 1832, *Ccn2* median: 63 TPM) as compared to the other two strains (Figure 3).

In contrast, the two genes *Kap* and *Umod* showed higher expression levels in wildtype kidneys (*Kap* median: 21030 TPM, *Umod*: 3493 TPM) compared to BAFF (*Kap* median: 16578 TPM, *Umod*: 3009 TPM) and BAFF-R (*Kap* median: 14703 TPM, *Umod*: 2747 TPM) knockout strains (Figure 3). Identified gene *Ren1* exhibited the opposite expression pattern with a lower median expression level in wildtype (median: 55 TPM) compared to BAFF (median: 122 TPM) and BAFF-R (128 TPM) ko mice (Figure 3).

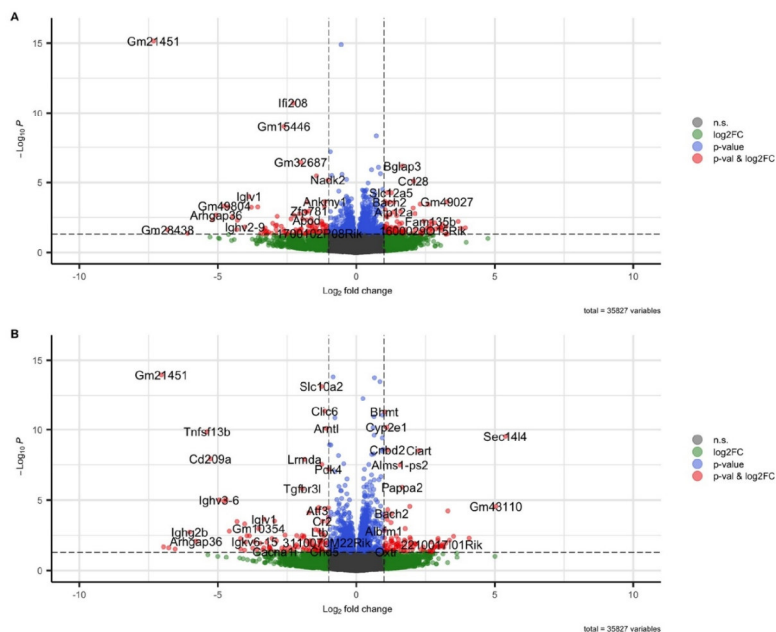


Figure 1. Volcano plots visualizing differentially regulated genes in kidneys 21 days after administration of nephrotoxic serum. (A) BAFF-R KO (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass}/J) vs. wildtype (C57BL/6). (B) BAFF KO (B6.129S2-*Tnfsf13b*^{tm1Msc}/J) vs. wildtype (C57BL/6) strain.

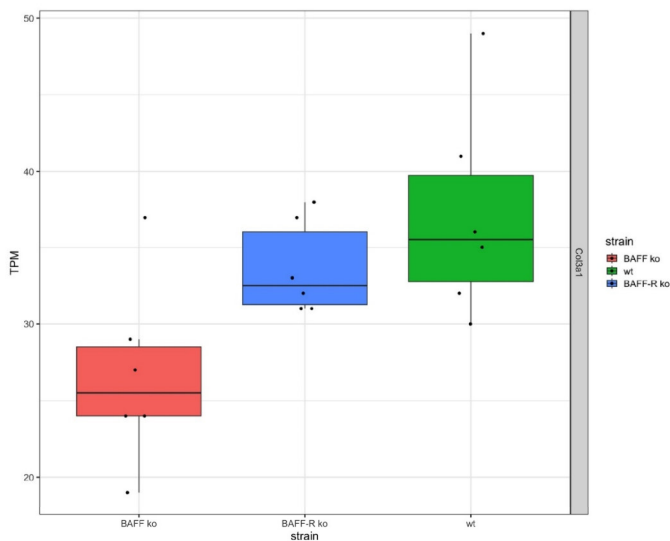


Figure 2. Collagen III expression in kidneys 21 days after administration of nephrotoxic serum in BAFF KO (B6.129S2-*Tnfsf13b*^{tm1Msc}/J), BAFF-R KO (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass}/J) and wildtype (C57BL/6) strain visualized as transcripts per million (TPM). *Col3a1*: Collagen Type III Alpha 1. ko: knockout, wt: wildtype. Each point shows one sample.

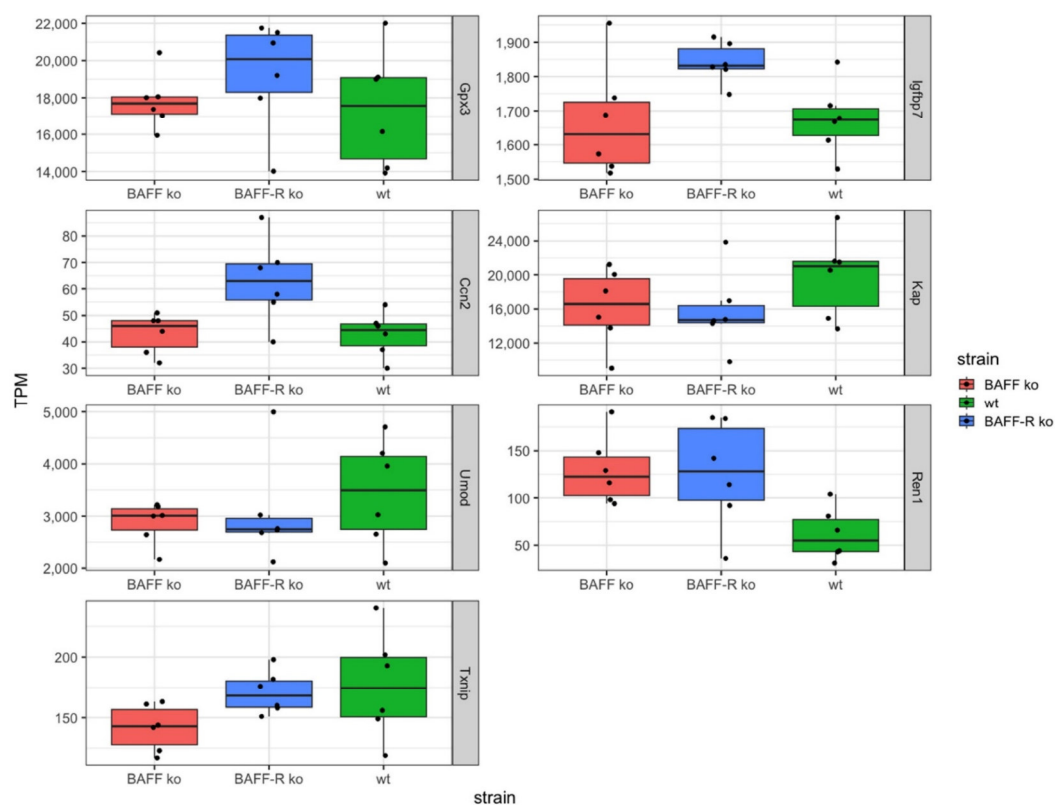


Figure 3. Identified genes in kidneys 21 days after administration of nephrotoxic serum in BAFF KO (B6.129S2-Tnfrsf13b^{tm1Msc}/J), BAFF-R KO (B6(Cg)-Tnfrsf13c^{tm1Mass}/J) and wildtype (C57BL/6J) strain, visualized as transcripts per million (TPM). *Gpx3*: Glutathione Peroxidase 3, *Igfbp7*: Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 7, *Ccn2*: Cellular Communication Network Factor 2, *Kap*: Kidney androgen regulated protein, *Umod*: Uromodulin, *Ren1*: Renin, *Txnip*: Thioredoxin Interacting Protein. ko: knockout, wt: wildtype. Each point shows one sample.

The *Txnip* expression level was the lowest in BAFF ko kidneys (median: 143 TPM) and similar in BAFF-R ko (median: 168 TPM) and wildtype (median: 174 TPM) mice (Figure 3).

In addition, the TNF superfamily member TWEAK (*Tnfrsf12*) and its receptor (*Tnfrsf12a*) were expressed in the kidneys of the three mouse strains (Figure 4). Thereby, the expression of TWEAK and its receptor were similar in BAFF ko (*Tnfrsf12* median: 28.5 TPM, *Tnfrsf12a* median: 12 TPM), BAFF-R ko (*Tnfrsf12* median: 32.5 TPM, *Tnfrsf12a* median: 19.5 TPM) and wildtype kidneys (*Tnfrsf12* median: 29 TPM, *Tnfrsf12a* median: 14 TPM). However, the expression of TWEAK was higher compared to the expression level of the receptor in all three strains.

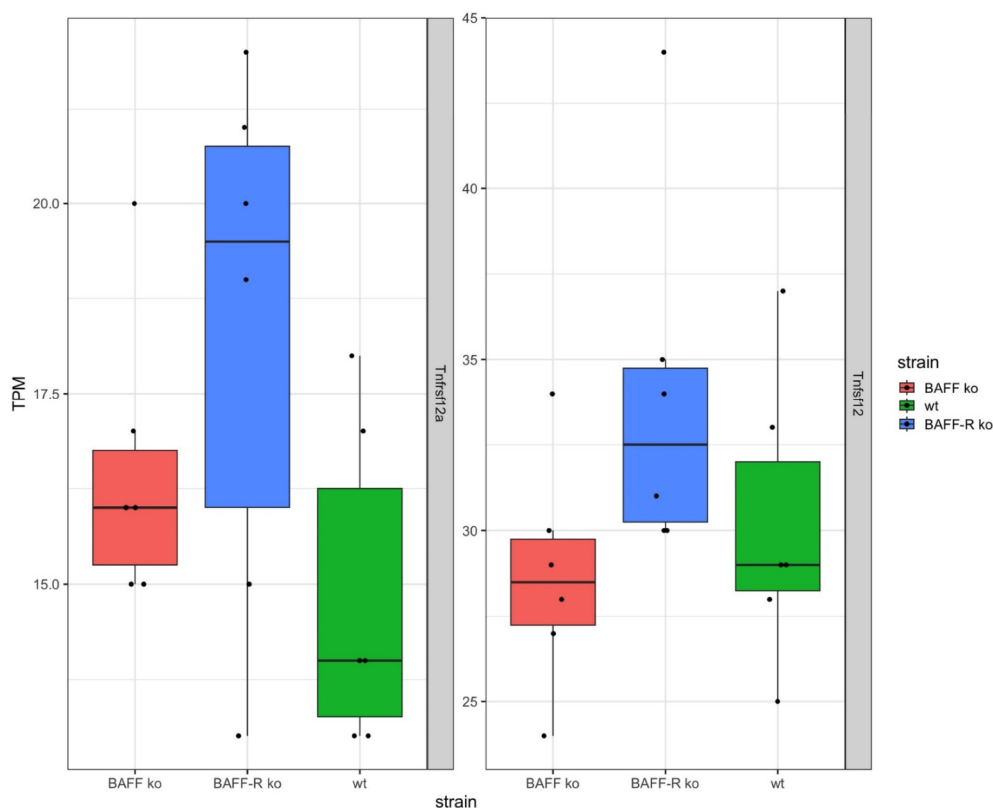


Figure 4. Analyzed genes (TWEAK/TWEAK receptor system) of kidneys 21 days after the administration of nephrotoxic serum in BAFF KO (B6.129S2-Tnfrsf13b^{tm1Msc}/J), BAFF-R KO (B6(Cg)-Tnfrsf13c^{tm1Mass}/J) and wildtype (C57BL/6) strain, visualized as transcripts per million (TPM). *Tnfrsf12*: TWEAK, *Tnfrsf12a*: TWEAK receptor. ko: knockout, wt: wildtype. Each point shows one sample.

3. Discussion

In our previous work [54], we investigated the BAFF/BAFF-R system during acute kidney injury (AKI) by using the ischemia/reperfusion (I/R) model. In the present study, we now focus on the cytokine BAFF and its receptors during renal fibrosis processes in the chronic kidney disease (CKD) model of nephrotoxic serum nephritis (NTN). The transcriptome of BAFF ko, BAFF-R ko and wildtype kidneys was analyzed 21 days after the administration of nephrotoxic serum with regard to differentially expressed genes.

Ougaard et al. have recently reported that NTN originally associated with acute kidney glomerulonephritis can serve as an excellent model for CKD [53]. An advantage of our study design was the fact that used strains were not prone to autoimmunity, which enabled us to discover the impact of the BAFF/BAFF-R system during autoimmune GN without genetic determined autoimmune influence.

As expected, all strains showed an expression of collagen III (*Col3a1*) as evidence for the development of renal fibrosis in the chronic phase of kidney injury. Interestingly, the expression level of *Col3a1* was lower in BAFF ko kidneys compared to BAFF-R ko and wildtype kidneys. This finding indicates that the knockout of the cytokine BAFF seemed to

improve chronic kidney damage by reducing the development of renal fibrosis. It is known that the inhibition of BAFF attenuates fibrosis in scleroderma [55]. In systemic sclerosis, BAFF promotes collagen and profibrotic marker expression by dermal fibroblasts [56]. A study of Thapa et al. in 2020 showed that targeting BAFF attenuates autoantibody production which is associated with cholestatic liver disease and that BAFF is a potential target for hepatic fibrosis [57]. Furthermore, it is known that B cells promote myocardial collagen type I and III expression [58].

The same expression pattern was detected for Thioredoxin Interacting Protein (*Txnip*). This gene showed the lowest gene expression in kidneys of the BAFF ko strain, whereas the expression in the BAFF-R ko and wildtype was similar. *Txnip* is a regulator of cellular redox signaling and thus protects cells from oxidative stress. The expression of *Txnip* is upregulated in kidneys after unilateral ureteral obstruction (UOU) and the knockout mice were protected [59]. Therefore, *Txnip* seems to play a role in renal fibrosis and progression to CKD. *Txnip* expression significantly increased in human proteinuric kidney diseases like focal segmental glomerulosclerosis (FSGS), membranous nephropathy (MN) and diabetic nephropathy (DN) [60]. Its inhibition by CHOP deletion suppresses NLRP3 inflammasome activation and p-ASK1-dependent mitochondrial apoptosis, which decreased albuminuria and improved renal function in nephrotic syndrome (NS) [60]. Furthermore, UOU-induced renal inflammation is suppressed by inhibiting the activation of NF- κ B and NLRP3 inflammasome [59]. *Txnip* interacts with STAT3 and promotes STAT3 signaling pathway-activated profibrotic response [61]. The upregulation of *Txnip* is observed and implicated in pathological pathways in vivo and in vitro in NS, UOU-induced renal fibrosis, aging-related renal fibrosis and the DN model, as well in human proteinuric kidney disease. The genetic deletion of *Txnip* resulted in reduced oxidative stress, renal fibrosis and extracellular matrix accumulation, podocyte injury and inflammation [59]. The lower *Txnip* expression in BAFF ko kidneys may imply that the absence of BAFF mediated protective effects. Interestingly, the higher expression in BAFF-R ko suggests that BAFF signaling worsened the outcome, but that this signaling is not mediated via BAFF-R. The fact that *Txnip* expression in wildtype kidneys was similar to its expression pattern in BAFF-R ko strain kidneys supports this hypothesis. Furthermore, we have recently observed similar effects in BAFF and BAFF-R ko mice in a model of acute kidney injury [54].

In addition, even *Gpx3*, *Igfbp7* and *Ccn2* showed this expression pattern with a higher expression level in BAFF-R ko compared to BAFF ko kidneys. Glutathione Peroxidase 3 (*Gpx3*) is a selenoprotein and catalyzes the reduction of organic hydroperoxides and hydrogen peroxide via glutathione, therefore protecting cells against oxidative damage. It is primarily secreted by renal TECs of the proximal section [62,63] and binds in vitro as well as in vivo to the basement membrane of proximal and distal TECs in the renal cortex of mice [64]. A related pathway is the cellular response to stimuli and the activity of *Gpx3*, which is associated with CKD. In CKD patients, the level of *Gpx3* is reduced compared to healthy individuals [62,65]. Another study detected *Gpx3* upregulation after an I/R injury of the kidney in mice [66]. Therefore, a higher expression of *Gpx3* in BAFF-R ko kidneys may imply that the induced renal damage was larger and led to a higher *Gpx3* expression in order to compensate. However, expression level alone provides no information about the function and activity at protein level. Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 7 (*Igfbp7*) stimulates cell adhesion and is related to cellular response to stimuli pathway as well. Besides *Timp-2*, *Igfbp7* was the first urinary biomarker for risk stratification with regard to developing AKI, which was approved in 2014 by the FDA [67,68]. The expression level of *Igfbp7* was high in all three strains, but highest in BAFF-R ko. Again, this could mean that damage in this strain was larger compared to the BAFF ko and wildtype strain, which led to the higher *Igfbp7* expression. The Cellular Communication Network Factor 2 (*Ccn2*) is a component of the extracellular matrix (ECM), involved in cellular signaling and related to renal fibrosis [69–71]. Therefore, *Ccn2* is discussed as a fibrotic biomarker [72,73]. Mouse studies revealed that *Ccn2* binds to renal TECs and thereby contributes to renal damage [74]. Against this background, the expression pattern of *Ccn2* in our study would

mean that damage in BAFF-R ko kidneys induced by the administration of NTS was higher compared to BAFF ko and wildtype kidneys.

Our finding of lower expression levels in BAFF ko kidneys which indicates a protective effect with regard to renal fibrosis is in line with the literature. In the case of IgA nephropathy, BAFF enhances the expression of fibroblast factors by activating the TRAF6/NF- κ B signaling pathway in a rat model [39]. It is also known that BAFF activates B cells through the NF- κ B signaling pathway in patients with IgA nephropathy [40] and that B cell activation and elevated BAFF levels are present in these patients [41,42]. Plasma levels of BAFF positively correlated with the Katakuchi score. In GN patients, BAFF levels are higher and receptors increased in tubulointerstitial area [44]. BAFF exerted a proliferative effect on human mesangial cells in vitro through BAFF-R; therefore, BAFF may contribute to the pathogenesis of glomerulonephritis [43]. In addition, anti-BAFF therapy with belimumab was recently approved for the use in LN due to its beneficial effects [75].

However, in our study, we did not find any evidence of BAFF-R (*Tnfrsf13c*) or BCMA (*Tnfrsf17*) expression, as there were no reads mapping to these transcripts in the majority of mice over all conditions. In contrast, the expression of TACI (*Tnfrsf13b*) cannot be excluded (Figure S1). Nevertheless, in regard to TNF superfamily members, TWEAK (*Tnfrsf12*) was detected on RNA level as well its receptor (*Tnfrsf12a*). It is known that the TWEAK/TWEAK receptor pathway plays a role in the pathogenesis of nephritis [76]. Anti-TWEAK treatment with monoclonal antibodies (mAb) attenuated glomerular and tubular damage and tubulointerstitial fibrosis. The TWEAK/Fn14 pathway promotes mesangial cell proliferation, vascular cell activation and renal cell death [76]. The anti-TWEAK mAb administration into WT mice in the NTN model ameliorated proteinuria and improved kidney histology, and decreased glomerular Ig deposition, macrophage infiltrates and tubulointerstitial fibrosis [76]. Fn14 is induced in injured and diseased tissue, expressed by mesangial cells, podocytes, endothelial cells and tubular cells [77–80]. TWEAK can promote tubular cell death [81,82] and protein levels elevated in lupus patients with active nephritis, and can increase during nephritic flares [83,84]. TWEAK and Fn14 mRNA is upregulated in glomerular and tubular compartments in human LN [85]. For one thing, autophagy in renal fibrosis can degrade unnecessary or dysfunctional components and therefore prevent cell apoptosis. Apart from that, it is also possible that damaged TECs do not undergo apoptosis and thus survive via autophagy. Thereby, TECs undergo maladaptive repair, phenotype changes and TECs, producing proinflammatory and profibrotic cytokines. Finally, renal fibrosis aggravates [86]. Furthermore, the senescence of TEC in CKD is induced by hypertension, diabetes or IgA nephropathy [16]. The characteristics of senescence are cell cycle arrest at the G2/M phase and the secretion of proinflammatory and profibrotic factors [16–18], which links tubular cell senescence with renal fibrosis. For the above-mentioned reasons, it can be assumed that besides the cytokine BAFF, even TWEAK and TWEAK receptor signaling is related to the chronic phase of renal disease. The chronological order of these events has to be further investigated.

In addition, three further genes—*Kap*, *Umod* and *Ren1*—were detected in our analyses. The expression pattern of Kidney androgen regulated protein (*Kap*) and Uromodulin (*Umod*) was similar to each other. Higher gene expression was detected in the wildtype strain, whereas expression level was lower and similar in BAFF and BAFF-R ko kidneys. In the case of Renin (*Ren1*), expression levels were also similar in BAFF and BAFF-R ko kidneys, but higher in comparison to the wildtype. *Kap* is expressed in the proximal section of TECs [87] and its function is unknown so far. It seems to be critical for cardiovascular-renal homeostasis, and the overexpression of *Kap* induces hypertension [88]. Studies showed glomerulosclerosis and proteinuria in transgenic mice [89]. A protective role is discussed as well. It was shown that Cyclosporin A (CsA) induces the downregulation of *Kap* in the S3 segment of proximal TECs, which led to damage and toxicity [90].

Umod is produced in kidneys by cells of thick ascending limbs and distal tubules. It may act as an inhibitor of calcium crystallization in renal fluids and its excretion in urine may provide defense against urinary tract infections. *Umod* plays a role in glomerular

filtration, kidney development, and organ and tissue specific immune response, and is associated with tubulointerstitial kidney disease, nephritis, and renal tubular atrophy [91,92]. Umod may serve as a receptor for the binding and endocytosis of cytokines and TNF. Studies showed that single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *Umod* gene are associated with GFR and CKD [93,94]. The serum levels of Umod are higher in CKD patients [95]. Nevertheless, protective effects are discussed as well. *Umod* knockout mice, undergoing ischemia/reperfusion (I/R) injury, showed more inflammation, tubular necrosis and a greater impairment of kidney function [96]. Without knowing the precise role of Kap and Umod in our model, we cannot derive the meaning of the expression pattern. Whether the lower expression levels of BAFF and BAFF-R ko are synonymous with enhancement (Kap and Umod negative effects) or worsening (Kap and Umod positive effects), it is not clear. Renin is secreted by kidneys, plays a role for regulation of blood pressure [97] and electrolyte balance and is associated with renal tubular dysgenesis, tubulointerstitial kidney disease and chronic kidney disease [98]. Mutations in the *REN* gene lead to a predisposition to develop AKI [99]. Our results support the need for further analyses on protein level with regard to use of Renin as a prognostic biomarker.

The following table summarizes the analyzed genes and expression pattern with regard to BAFF and BAFF-R ko (Table 1).

Table 1. Overview of analyzed genes and expression pattern with regard to BAFF and BAFF-R ko.

Gene	Expression	Current Status	References
<i>Txnip</i>	lower in BAFF ko BAFF-R ko and wt similar	associated with kidney disease	[59–61]
<i>Gpx3</i>	higher in BAFF-R ko BAFF ko and wt similar	associated with CKD	[62–66]
<i>Igfbp7</i>	higher in BAFF-R ko BAFF ko and wt similar	approved urinary biomarker	[67,68]
<i>Ccn2</i>	higher in BAFF-R ko BAFF ko and wt similar	related to renal fibrosis, discussed as fibrotic marker	[69–74]
<i>Kap</i>	higher in wt BAFF and BAFF-R ko similar	unknown function, expressed in proximal section of TECs	[87–90]
<i>Umod</i>	higher in wt BAFF and BAFF-R ko similar	associated with kidney disease	[91–96]
<i>Ren1</i>	lower in wt BAFF and BAFF-R ko similar	associated with kidney disease	[97–99]

Txnip: Thioredoxin Interacting Protein, *Gpx3*: Glutathione Peroxidase 3, *Igfbp7*: Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 7, *Ccn2*: Cellular Communication Network Factor 2, *Kap*: Kidney androgen regulated protein, *Umod*: Uromodulin, *Ren1*: Renin. ko: knockout, wt: wildtype.

In summary, our analyses suggest the involvement of BAFF in CKD, and that besides the BAFF/BAFF-R system even the TWEAK and TWEAK receptor play a role in the chronic phase of GN. With regard to collagen III expression, BAFF ko seems to improve the outcome. From a clinical point of view, this would be an argument in favor of the early use of belimumab in lupus nephritis. Further investigations with larger sample sizes and different time points after the administration of the nephrotoxic serum are needed to verify this hypothesis and learn more about the chronological order of transition from AKI to CKD. In the present study, only female mice were analyzed. In regard to Ougaard et al. [53], no differences in disease progression between sexes were observed for the performed model. In addition, in our previous work, we could not find any evidence on the RNA level that indicated that female hormones influence the results in an acute kidney injury model using BAFF and BAFF-R ko mice [54]. With regard to the detection of *Txnip*, *Gpx3*, *Ccn2*, *Kap*, *Umod* and *Ren1*, further analyses are needed to rule out that detection is not restricted to

RNA level and that they are not only upregulated in the chronic phase of kidney injury, so that they can be used as prognostic biomarkers to predict the transition from AKI to CKD.

4. Materials and Methods

4.1. Ethical Statement

The conducted study, concerning the housing, breeding, handling and experimental procedures, was approved by the local authority (Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, reference number 23 177-07/G 18-1-024), as well as being conducted in accordance with EU Directive 2010/63/EU and the German Animal Welfare Act.

4.2. 3R Principle

Each cage was fitted with nesting material and a shelter in the form of a tube. If possible, mice were kept as a minimum in pairs and as far as possible together with littermates. Before starting the experiment, animals were placed in the designated surrounding for at least 7 days to allow an adaptation to the new environment. The habituation to the experimenter was achieved through animal-friendly handling. The necessary fixation procedures were also carefully trained 3–5 days a week. During the trial, in addition to the daily visual inspection, regular trial-specific scoring was carried out by the trial staff in accordance with the available score sheet, including clear instructions for action. In addition, the veterinary service of the University Medical Center was available 24 h a day. If new methods became known in the course of training that could contribute to reducing pain, suffering or harm to animals in experiments, these were implemented in consultation with the animal house management and animal welfare officer if necessary, after official approval.

4.3. Laboratory Animals

All three strains used were purchased from The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA). The study was performed with female BAFF KO (B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Msc}/J, RRID: IMSR_JAX:010572, [100,101]), BAFF-R KO (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass}/J, RRID: IMSR_JAX:007212, [102]) and wildtype (WT), common name B6 (C57BL/6J, RRID: IMSR_JAX:000664, [103]), mice. Housing occurred in a specific-pathogen-free (SPF) unit under standardized conditions (12/12 h light/dark cycle, room temperature 22 ± 2 °C, humidity 50–70%) in individually ventilated cages (IVCs). Food and water were autoclaved and supplied ad libitum. The experimental procedure was carried out with eight-week-old female BAFF KO, BAFF-R KO and WT mice. For this purpose, the mice were housed in a conventional unit under the same standardized conditions (12/12 h light/dark cycle, room temperature 20 ± 2 °C, humidity 50–70%) in filtertop cages.

4.4. Experimental Study Design

In order to investigate the BAFF/BAFF-R system in chronic kidney disease, a nephrotoxic serum nephritis (NTN) model was performed in the BAFF KO (B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Msc}/J), BAFF-R KO (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass}/J) and wildtype (C57BL/6J) mice (six animals per strain). Then, 21 days after the administration of the nephrotoxic serum, transcriptome analyses of the kidneys were carried out to evaluate differential gene expression (Figure 5).

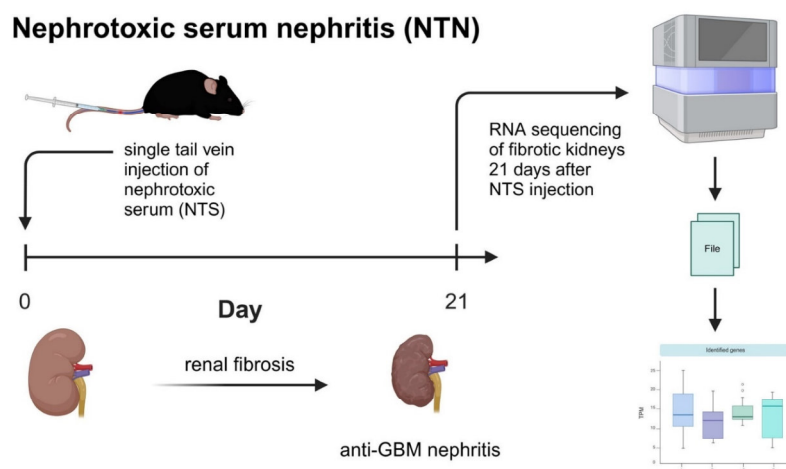


Figure 5. Performed nephrotoxic serum nephritis (NTN) model and bioinformatical analyses. Administration of nephrotoxic serum by single injection into tail vein was performed in BAFF KO (B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Msc}/J), BAFF-R KO (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass}/J) and wildtype (C57BL/6J) mice. Transcriptome analyses of the kidneys of all three strains were carried out after 21 days. Created with BioRender.com.

4.5. Nephrotoxic Serum Nephritis (NTN)

Ougaard et al. [53] evaluated the non-accelerated murine nephrotoxic serum nephritis (NTN) model, which was performed in this study. For the induction of passive anti-GBM (glomerular basement membrane) nephritis, a Sheep Anti-Rat Glomerular Basement Membrane (GBM) Serum (Cat. No. PTX-001AGBM, Probetex Inc., San Antonio, TX, USA) was used. Deposits of heterologous IgGs in GBM appear within minutes and the intensity increases the following three to five days. Proteinuria is detected after 24 h. The glomerular localization of autologous IgGs is observed after eight to ten days. Glomerular crescents appear after three weeks and lead to glomerulosclerosis [104]. In our study, the eight-week-old female BAFF KO, BAFF-R KO and WT mice were weighed and fixed in a restrainer (Cat. No. 100680, G&P Kunststofftechnik GbR, Kassel, Germany). The tail was dipped into water at body temperature in order to improve blood circulation so that the veins became pronounced. Before the single administration of nephrotoxic serum (NTS), the tail was disinfected with 70% ethanol. According to GV-SOLAS [105], an allowed maximum volume of 5 μ L NTS at body temperature per g body weight were injected into the tail vein. After that, the mice were observed for the following 21 days. Analgesic Buprenorphine (Temgesic, PZN 345928, Indivior, North Chesterfield, VA, USA) was only applied if necessary. Spot urine was collected 21 days after the injection of nephrotoxic serum to determine proteinuria. Median ACR (Albumin Creatinine Ratio) was between 30 and 300 mg/g according to KDIGO [6]. The mice were sacrificed via cervical dislocation, both kidneys were removed, partly shock frozen and stored at -80 °C until RNA sequencing.

4.6. RNA Isolation

As described in our previous work [54], shock frozen kidney tissue was initially homogenized in Lysis Solution RL (part of innuPREP RNA Mini Kit, Cat. No. 845-KS-2040250, Analytik Jena GmbH, Jena, Germany) with Tissue Lyser LT (Qiagen N.V., Venlo, The Netherlands). After that, the isolation of total RNA was proceeded with the same kit (details given above) according to the manufacturer's manual. Finally, the concentration

and purity of RNA was determined with NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA).

4.7. RNA Sequencing

The quality check, sequencing and provision of data as FASTQ files were carried out by StarSEQ GmbH (Mainz, Germany) as described in our previous work [54]. An Agilent RNA 6000 Nano Kit (Cat. No. 5067-1511) and Agilent 2100 Bioanalyzer (kit and device from Agilent, Santa Clara, CA, USA) were used for measuring the RNA integrity number (RIN). By using a Qubit RNA High Sensitivity (HS) Assay Kit (Cat. No. Q32855) and Qubit 4 Fluorometer (kit and device from Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA), the concentration of RNA was determined. For library preparation, an NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina with unique dual index primer pairs (Cat. No. E7760L, New England BioLabs Inc., Ipswich, MA, USA) was used, and the concentration as well as quality were defined with a Qubit 4 Fluorometer by using a Qubit dsDNA HS Assay Kit (Cat. No. Q32854, Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA) and QIAxcel Instrument with QIAxcel ScreenGel 1.5.0 Cartridge (Qiagen N.V., Venlo, Netherlands). The paired-end sequencing of RNA (150 bp read length, approximately 25 million reads per sample (usually more)) was run on Illumina NextSeq 2000 (Illumina, San Diego, CA, USA).

4.8. Bioinformatical and Statistical Analyses

Six samples of each strain were investigated in the following bioinformatical analyses. The paired-end RNA Seq data were analyzed on a MacBook with kallisto 0.46.1 [106] using Ensemble Transcriptome v96 *mus musculus* (<https://github.com/pachterlab/kallisto-transcriptome-indices/releases>, accessed on 13 April 2024) as a reference, manually deleting transcript sequences from hemoglobin chains. The analysis was carried out with R (version 4.1.2) using DeSeq2 [107] for differential gene expression analysis. Based on read counts for each gene in each sample, DeSeq2 generates a generalized linear model of the negative binomial family, followed by several mathematical steps (normalization, estimation of gene-wise dispersion, shrinkage estimation of logarithmic fold changes, Fisher estimation, Wald test and Cook's distance for outlier detection, adjusting for multiple testing using the procedure of Benjamini and Hochberg [108]). The output of the tool is a log2foldchange as well as an adjusted *p*-value for each gene and thus reflects the variability in gene expression of a particular gene within a group and between groups [107]. Volcano plots were made with the Bioconductor package "Enhanced Volcano" [109]. The figures were produced with ggplot2 [110]. All scripts and gene expression data to reproduce the figures and analysis are available at https://github.com/sebboegel/nts_moeckel_2024 (accessed on 13 April 2024).

5. Conclusions

We can conclude that BAFF is involved in CKD, but signaling is not mediated via BAFF-R. Besides the BAFF/BAFF-R system, even the TWEAK/TWEAK receptor axis seems to be involved in autoimmune GN and therefore chronic kidney disease. The identified genes *Txnip*, *Gpx3*, *Ccn2*, *Kap*, *Umod* and *Ren1* may be useful biomarkers and should be further analyzed with regard to the transition from acute to chronic kidney disease. Understanding the processes and interaction of participating networks during the transition from AKI to CKD will be the key to deduce prognostic biomarkers, which will enable the recognition and initiation of therapy before critical, irreversible turnover to CKD.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms25105415/s1>.

Author Contributions: Conceptualization, T.M. and A.S.; methodology, T.M.; software, S.B.; validation, T.M. and S.B.; formal analysis, S.B.; investigation, T.M.; resources, T.M. and A.S.; data curation, S.B.; writing—original draft preparation, T.M.; writing—review and editing, T.M., S.B. and A.S.; visu-

alization, T.M. and S.B.; supervision, A.S.; project administration, T.M. and A.S.; funding acquisition, not applicable. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Ethics Committee of Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz (protocol code 23 177-07/G 18-1-024 dated 8 February 2019, 23 177-07/G 18-1-024 E1 dated 3 March 2020 and 23 177-07/G 18-1-024 E2Ä dated 21 February 2022).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: All scripts and gene expression data to reproduce the figures and analysis of this paper are available at https://github.com/sebboegel/nts_moeckel_2024 (accessed on 13 April 2024).

Acknowledgments: We thank the animal caretakers for their great cooperation and Bettina Steinmann for assistance in the administration of NTS. We also wish to thank Sven-Ernö Bikar and his staff at StarSEQ for their excellent support of the RNA sequencing. Figure 5 was created with BioRender.com. The data and results published in this article are part of the doctoral thesis of Tamara Möckel.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Imig, J.D.; Ryan, M.J. Immune and inflammatory role in renal disease. *Compr. Physiol.* **2013**, *3*, 957. [\[PubMed\]](#)
2. Espi, M.; Koppe, L.; Fouque, D.; Thauinat, O. Chronic kidney disease-associated immune dysfunctions: Impact of protein-bound uremic retention solutes on immune cells. *Toxins* **2020**, *12*, 300. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Djurdjaj, S.; Boor, P. Cellular and molecular mechanisms of kidney fibrosis. *Mol. Asp. Med.* **2019**, *65*, 16–36. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Kovcsdy, C.P. Epidemiology of chronic kidney disease: An update 2022. *Kidney Int. Suppl.* **2022**, *12*, 7–11. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Tang, P.C.-T.; Zhang, Y.-Y.; Chan, M.K.-K.; Lam, W.W.-Y.; Chung, J.Y.-F.; Kang, W.; To, K.-F.; Lan, H.-Y.; Tang, P.M.-K. The emerging role of innate immunity in chronic kidney diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 4018. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int.* **2024**, *105*, S117–S314. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Webster, A.C.; Nagler, E.V.; Morton, R.L.; Masson, P. Chronic kidney disease. *Lancet* **2017**, *389*, 1238–1252. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Chadban, S.J.; Atkins, R.C. Glomerulonephritis. *Lancet* **2005**, *365*, 1797–1806. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Anders, H.-J.; Kitching, A.R.; Leung, N.; Romagnani, P. Glomerulonephritis: Immunopathogenesis and immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* **2023**, *23*, 453–471. [\[CrossRef\]](#)
10. Bikbov, B.; Purcell, C.A.; Levey, A.S.; Smith, M.; Abdoli, A.; Abebe, M.; Adebayo, O.M.; Afarideh, M.; Agarwal, S.K.; Agudelo-Botero, M. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* **2020**, *395*, 709–733. [\[CrossRef\]](#)
11. Guo, Q.; Wu, S.; Xu, C.; Wang, J.; Chen, J. Global disease burden from acute glomerulonephritis 1990–2019. *Kidney Int. Rep.* **2021**, *6*, 2212–2217. [\[CrossRef\]](#)
12. Burlingame, R.; Boey, M.; Starkebaum, G.; Rubin, R. The central role of chromatin in autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Investig.* **1994**, *94*, 184–192. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Gewin, L.S. Renal fibrosis: Primacy of the proximal tubule. *Matrix Biol.* **2018**, *68*, 248–262. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Bonventre, J.V. Primary proximal tubule injury leads to epithelial cell cycle arrest, fibrosis, vascular rarefaction, and glomerulosclerosis. *Kidney Int. Suppl.* **2014**, *4*, 39–44. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Bonventre, J.V. Maladaptive proximal tubule repair: Cell cycle arrest. *Nephron Clin. Pract.* **2014**, *127*, 61–64. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Ferenbach, D.A.; Bonventre, J.V. Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. *Nat. Rev. Nephrol.* **2015**, *11*, 264–276. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Andrade, L.; Rodrigues, C.E.; Gomes, S.A.; Noronha, I.L. Acute kidney injury as a condition of renal senescence. *Cell Transplant.* **2018**, *27*, 739–753. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Yang, L.; Humphreys, B.D.; Bonventre, J.V. Pathophysiology of acute kidney injury to chronic kidney disease: Maladaptive repair. *Controv. Acute Kidney Inj.* **2011**, *174*, 149–155.
19. Qi, R.; Yang, C. Renal tubular epithelial cells: The neglected mediator of tubulointerstitial fibrosis after injury. *Cell Death Dis.* **2018**, *9*, 1126. [\[CrossRef\]](#)
20. Takaori, K.; Nakamura, J.; Yamamoto, S.; Nakata, H.; Sato, Y.; Takase, M.; Nameta, M.; Yamamoto, T.; Economides, A.N.; Kohno, K. Severity and frequency of proximal tubule injury determines renal prognosis. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* **2016**, *27*, 2393. [\[CrossRef\]](#)
21. O’Sullivan, K.M.; Ford, S.L.; Longano, A.; Kitching, A.R.; Holdsworth, S.R. Intrarenal Toll-like receptor 4 and Toll-like receptor 2 expression correlates with injury in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* **2018**, *315*, F1283–F1294. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

22. Lin, M.; Yiu, W.H.; Li, R.X.; Wu, H.J.; Wong, D.W.; Chan, L.Y.; Leung, J.C.; Lai, K.N.; Tang, S.C. The TLR4 antagonist CRX-526 protects against advanced diabetic nephropathy. *Kidney Int.* **2013**, *83*, 887–900. [[CrossRef](#)]
23. Chen, J.-Q.; Szodoray, P.; Zeher, M. Toll-like receptor pathways in autoimmune diseases. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **2016**, *50*, 1–17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Zettel, K.; Korff, S.; Zamora, R.; Morelli, A.E.; Darwiche, S.; Loughran, P.A.; Elson, G.; Shang, L.; Salgado-Pires, S.; Scott, M.J. Toll-like receptor 4 on both myeloid cells and dendritic cells is required for systemic inflammation and organ damage after hemorrhagic shock with tissue trauma in mice. *Front. Immunol.* **2017**, *8*, 1672. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Hou, B.; Reizis, B.; DeFranco, A.L. Toll-like receptors activate innate and adaptive immunity by using dendritic cell-intrinsic and-extrinsic mechanisms. *Immunity* **2008**, *29*, 272–282. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Lan, H.Y.; Chung, A.C.-K. TGF- β /Smad signaling in kidney disease. *Semin. Nephrol.* **2012**, *32*, 236–243. [[CrossRef](#)]
27. Grech, A.P.; Amesbury, M.; Chan, T.; Gardam, S.; Basten, A.; Brink, R. TRAF2 differentially regulates the canonical and noncanonical pathways of NF- κ B activation in mature B cells. *Immunity* **2004**, *21*, 629–642. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Li, P.-P.; Liu, D.-D.; Liu, Y.-J.; Song, S.-S.; Wang, Q.-T.; Chang, Y.; Wu, Y.-J.; Chen, J.-Y.; Zhao, W.-D.; Zhang, L.-L. BAFF/BAFF-R involved in antibodies production of rats with collagen-induced arthritis via PI3K-Akt-mTOR signaling and the regulation of paeoniflorin. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *141*, 290–300. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Khan, W.N. B cell receptor and BAFF receptor signaling regulation of B cell homeostasis. *J. Immunol.* **2009**, *183*, 3561–3567. [[CrossRef](#)]
30. Moore, P.A.; Belvedere, O.; Orr, A.; Pieri, K.; LaFleur, D.W.; Feng, P.; Soppet, D.; Charters, M.; Gentz, R.; Parmelee, D.; et al. BlyS: Member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science* **1999**, *285*, 260–263. [[CrossRef](#)]
31. Schneider, P.; MacKay, F.; Steiner, V.; Hofmann, K.; Bodmer, J.-L.; Holler, N.; Ambrose, C.; Lawton, P.; Bixler, S.; Acha-Orbea, H.; et al. BAFF, a Novel Ligand of the Tumor Necrosis Factor Family, Stimulates B Cell Growth. *J. Exp. Med.* **1999**, *189*, 1747–1756. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Vincent, F.B.; Morand, E.F.; Mackay, F. BAFF and innate immunity: New therapeutic targets for systemic lupus erythematosus. *Immunol. Cell Biol.* **2012**, *90*, 293–303. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Matsushita, T.; Sato, S. The role of BAFF in autoimmune diseases. *Jpn. J. Clin. Immunol.* **2005**, *28*, 333–342. [[CrossRef](#)]
34. Itotagawa, E.; Tomofuji, Y.; Kato, Y.; Konaka, H.; Tsujimoto, K.; Park, J.; Nagira, D.; Hirayama, T.; Jo, T.; Hirano, T. SLE stratification based on BAFF and IFN-I bioactivity for biologics and implications of BAFF produced by glomeruli in lupus nephritis. *Rheumatology* **2023**, *62*, 1988–1997. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Friebus-Kardash, J.; Branco, L.; Ribic, C.; Chizzolini, C.; Huynh-Do, U.; Dubler, D.; Roux-Lombard, P.; Dolff, S.; Kribben, A.; Eisenberger, U. Immune complexes containing serum B-cell activating factor and immunoglobulin G correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2018**, *33*, 54–64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Kang, S.; Fedoriw, Y.; Brennehan, E.K.; Truong, Y.K.; Kikly, K.; Vilen, B.J. BAFF induces tertiary lymphoid structures and positions T cells within the glomeruli during lupus nephritis. *J. Immunol.* **2017**, *198*, 2602–2611. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Nawata, A.; Nakayamada, S.; Hisano, S.; Miyazaki, Y.; Miyamoto, T.; Shiba, E.; Hisaoka, M.; Tanaka, Y. Differential expression of IFN- α , IL-12 and BAFF on renal immune cells and its relevance to disease activity and treatment responsiveness in patients with proliferative lupus nephritis. *Lupus Sci. Med.* **2023**, *10*, e000962. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Suso, J.; Posso-Osorio, I.; Jiménez, C.; Naranjo-Escobar, J.; Ospina, F.; Sánchez, A.; Cañas, C.; Tobón, G. Profile of BAFF and its receptors' expression in lupus nephritis is associated with pathological classes. *Lupus* **2018**, *27*, 708–715. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Cao, Y.; Lu, G.; Chen, X.; Chen, X.; Guo, N.; Li, W. BAFF is involved in the pathogenesis of IgA nephropathy by activating the TRAF6/NF- κ B signaling pathway in glomerular mesangial cells. *Mol. Med. Rep.* **2020**, *21*, 795–805. [[CrossRef](#)]
40. McCarthy, D.D.; Kujawa, J.; Wilson, C.; Papandile, A.; Poreci, U.; Porfilio, E.A.; Ward, L.; Lawson, M.A.; Macpherson, A.J.; McCoy, K.D. Mice overexpressing BAFF develop a commensal flora-dependent, IgA-associated nephropathy. *J. Clin. Investig.* **2011**, *121*, 3991–4002. [[CrossRef](#)]
41. Ye, M.; Peng, Y.; Liu, C.; Yan, W.; Peng, X.; He, L.; Liu, H.; Liu, F. Vibration induces BAFF overexpression and aberrant O-Glycosylation of IgA1 in cultured human tonsillar mononuclear cells in IgA nephropathy. *BioMed Res. Int.* **2016**, *2016*, 9125960. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Zheng, N.; Fan, J.; Wang, B.; Wang, D.; Feng, P.; Yang, Q.; Yu, X. Expression profile of BAFF in peripheral blood from patients of IgA nephropathy: Correlation with clinical features and Streptococcus pyogenes infection. *Mol. Med. Rep.* **2017**, *15*, 1925–1935. [[CrossRef](#)]
43. Zheng, N.; Wang, D.; Ming, H.; Zhang, H.; Yu, X. BAFF promotes proliferation of human mesangial cells through interaction with BAFF-R. *BMC Nephrol.* **2015**, *16*, 72. [[CrossRef](#)]
44. Neusser, M.A.; Lindenmeyer, M.T.; Edenhofer, I.; Gaiser, S.; Kretzler, M.; Regele, H.; Segerer, S.; Cohen, C.D. Intrarenal production of B-cell survival factors in human lupus nephritis. *Mod. Pathol.* **2011**, *24*, 98–107. [[CrossRef](#)]
45. Schwarting, A.; Relle, M.; Meineck, M.; Fohr, B.; Triantafyllias, K.; Weinmann, A.; Roth, W.; Weinmann-Menke, J. Renal tubular epithelial cell-derived BAFF expression mediates kidney damage and correlates with activity of proliferative lupus nephritis in mouse and men. *Lupus* **2018**, *27*, 243–256. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Huang, W.; Quach, T.D.; Dascalu, C.; Liu, Z.; Leung, T.; Byrne-Steele, M.; Pan, W.; Yang, Q.; Han, J.; Lesser, M. Belimumab promotes negative selection of activated autoreactive B cells in systemic lupus erythematosus patients. *JCI Insight* **2018**, *3*, e122525. [[CrossRef](#)]

47. Stohl, W.; Kwok, A. Belimumab for the treatment of pediatric patients with lupus nephritis. *Expert Opin. Biol. Ther.* **2023**, *23*, 243–251. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Zhang, F.; Bae, S.-C.; Bass, D.; Chu, M.; Egginton, S.; Gordon, D.; Roth, D.A.; Zheng, J.; Tanaka, Y. A pivotal phase III, randomised, placebo-controlled study of belimumab in patients with systemic lupus erythematosus located in China, Japan and South Korea. *Ann. Rheum. Dis.* **2018**, *77*, 355–363. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Eddy, A.A.; López-Guisa, J.M.; Okamura, D.M.; Yamaguchi, I. Investigating mechanisms of chronic kidney disease in mouse models. *Pediatr. Nephrol.* **2012**, *27*, 1233–1247. [[CrossRef](#)]
50. Kaneko, Y.; Nimmerjahn, F.; Madaio, M.P.; Ravetch, J.V. Pathology and protection in nephrotoxic nephritis is determined by selective engagement of specific Fc receptors. *J. Exp. Med.* **2006**, *203*, 789–797. [[CrossRef](#)]
51. Xie, C.; Sharma, R.; Wang, H.; Zhou, X.J.; Mohan, C. Strain distribution pattern of susceptibility to immune-mediated nephritis. *J. Immunol.* **2004**, *172*, 5047–5055. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Nagai, H.; Yamada, H.; Nishigaki, T.; Nakazawa, M.; Koda, A. The susceptibility of experimental glomerulonephritis in six different strains of mice. *J. Pharmacobiodyn.* **1985**, *8*, 586–589. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Ougaard, M.K.E.; Kvist, P.H.; Jensen, H.E.; Hess, C.; Rune, I.; Sondergaard, H. Murine nephrotoxic nephritis as a model of chronic kidney disease. *Int. J. Nephrol.* **2018**, *2018*, 8424502. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Möckel, T.; Boegel, S.; Schwarting, A. Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice. *PLoS ONE* **2023**, *18*, e0291619. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Matsushita, T.; Fujimoto, M.; Hasegawa, M.; Matsushita, Y.; Komura, K.; Ogawa, F.; Watanabe, R.; Takehara, K.; Sato, S. BAFF antagonist attenuates the development of skin fibrosis in tight-skin mice. *J. Investig. Dermatol.* **2007**, *127*, 2772–2780. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. François, A.; Chatelus, E.; Wachsmann, D.; Sibilia, J.; Bahram, S.; Alsaleh, G.; Gottenberg, J.-E. B lymphocytes and B-cell activating factor promote collagen and profibrotic markers expression by dermal fibroblasts in systemic sclerosis. *Arthritis Res. Ther.* **2013**, *15*, R168. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Thapa, M.; Tedesco, D.; Gumber, S.; Elrod, E.J.; Han, J.-H.; Kitchens, W.H.; Magliocca, J.F.; Adams, A.B.; Grakoui, A. Blockade of BAFF reshapes the hepatic B cell receptor repertoire and attenuates autoantibody production in cholestatic liver disease. *J. Immunol.* **2020**, *204*, 3117–3128. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Mo, F.; Luo, Y.; Yan, Y.; Li, J.; Lai, S.; Wu, W. Are activated B cells involved in the process of myocardial fibrosis after acute myocardial infarction? An in vivo experiment. *BMC Cardiovasc. Disord.* **2021**, *21*, 5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Wu, M.; Li, R.; Hou, Y.; Song, S.; Han, W.; Chen, N.; Du, Y.; Ren, Y.; Shi, Y. Thioredoxin-interacting protein deficiency ameliorates kidney inflammation and fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction. *Lab. Investig.* **2018**, *98*, 1211–1224. [[CrossRef](#)]
60. Park, S.-J.; Kim, Y.; Li, C.; Suh, J.; Sivapackiam, J.; Goncalves, T.M.; Jarad, G.; Zhao, G.; Urano, F.; Sharma, V. Blocking CHOP-dependent TXNIP shuttling to mitochondria attenuates albuminuria and mitigates kidney injury in nephrotic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2022**, *119*, e2116505119. [[CrossRef](#)]
61. He, Q.; Li, Y.; Zhang, W.; Chen, J.; Deng, W.; Liu, Q.; Liu, D. Role and mechanism of TXNIP in ageing-related renal fibrosis. *Mech. Ageing Dev.* **2021**, *196*, 111475. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Avissar, N.; Ornt, D.B.; Yagil, Y.; Horowitz, S.; Watkins, R.H.; Kerl, E.A.; Takahashi, K.; Palmer, I.S.; Cohen, H.J. Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* **1994**, *266*, C367–C375. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Whitin, J.C.; Bhamre, S.; Tham, D.M.; Cohen, H.J. Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* **2002**, *283*, F20–F28. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Olson, G.E.; Whitin, J.C.; Hill, K.E.; Winfrey, V.P.; Motley, A.K.; Austin, L.M.; Deal, J.; Cohen, H.J.; Burk, R.F. Extracellular glutathione peroxidase (Gpx3) binds specifically to basement membranes of mouse renal cortex tubule cells. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* **2010**, *298*, F1244–F1253. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Yamamoto, Y.; Takekoshi, Y.; Itami, N.; Honjo, T.; Kojima, H.; Yano, S.; Takahashi, H.; Saito, I.; Takahashi, K. Enzyme-linked immunosorbent assay for extracellular glutathione peroxidase in serum of normal individuals and patients with renal failure on hemodialysis. *Clin. Chim. Acta* **1995**, *236*, 93–99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Pei, J.; Tian, X.; Yu, C.; Luo, J.; Zhang, J.; Hua, Y.; Wei, G. GPX3 and GSTT1 as biomarkers related to oxidative stress during renal ischemia reperfusion injuries and their relationship with immune infiltration. *Front. Immunol.* **2023**, *14*, 1136146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Kashani, K.; Al-Khafaji, A.; Ardiles, T.; Artigas, A.; Bagshaw, S.M.; Bell, M.; Bihorac, A.; Birkhahn, R.; Cely, C.M.; Chawla, L.S. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. *Crit. Care* **2013**, *17*, R25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Vijayan, A.; Faubel, S.; Askenazi, D.J.; Cerda, J.; Fissell, W.H.; Heung, M.; Humphreys, B.D.; Koyner, J.L.; Liu, K.D.; Mour, G. Clinical use of the urine biomarker [TIMP-2]×[IGFBP7] for acute kidney injury risk assessment. *Am. J. Kidney Dis.* **2016**, *68*, 19–28. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Feng, D.; Ngov, C.; Henley, N.; Boufaied, N.; Gerarduzzi, C. Characterization of matricellular protein expression signatures in mechanistically diverse mouse models of kidney injury. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 16736. [[CrossRef](#)]

70. Rayego-Mateos, S.; Morgado-Pascual, J.L.; Rodrigues-Diez, R.R.; Rodrigues-Diez, R.; Falke, L.L.; Mezzano, S.; Ortiz, A.; Egido, J.; Goldschmeding, R.; Ruiz-Ortega, M. Connective tissue growth factor induces renal fibrosis via epidermal growth factor receptor activation. *J. Pathol.* **2018**, *244*, 227–241. [[CrossRef](#)]
71. Rayego-Mateos, S.; Campillo, S.; Rodrigues-Diez, R.R.; Tejera-Muñoz, A.; Marquez-Exposito, L.; Goldschmeding, R.; Rodríguez-Puyol, D.; Calleros, L.; Ruiz-Ortega, M. Interplay between extracellular matrix components and cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis. *Clin. Sci.* **2021**, *135*, 1999–2029. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Phanish, M.K.; Winn, S.; Dockrell, M. Connective tissue growth factor-(CTGF, CCN2)—a marker, mediator and therapeutic target for renal fibrosis. *Nephron Exp. Nephrol.* **2010**, *114*, e83–e92. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Sánchez-López, E.; Rodríguez Díez, R.; Rodríguez Vita, J.; Rayego Mateos, S.; Rodríguez Díez, R.; Rodríguez García, E.; Lavoz Barria, C.; Mezzano, S.; Selgas, R.; Egido, J. Connective tissue growth factor (CTGF): A key factor in the onset and progression of kidney damage. *Nefrología* **2009**, *29*, 382–391. [[PubMed](#)]
74. Rayego-Mateos, S.; Morgado-Pascual, J.L.; Lavoz, C.; Rodrigues-Diez, R.R.; Márquez-Expósito, L.; Tejera-Muñoz, A.; Tejedor-Santamaría, L.; Rubio-Soto, I.; Marchant, V.; Ruiz-Ortega, M. CCN2 Binds to Tubular Epithelial Cells in the Kidney. *Biomolecules* **2022**, *12*, 252. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Furie, R.; Rovin, B.H.; Houssiau, F.; Malvar, A.; Teng, Y.K.O.; Contreras, G.; Amoura, Z.; Yu, X.; Mok, C.C.; Santiago, M.B.; et al. Two-Year, Randomized, Controlled Trial of Belimumab in Lupus Nephritis. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *383*, 1117–1128. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Xia, Y.; Campbell, S.R.; Broder, A.; Herlitz, L.; Abadi, M.; Wu, P.; Michaelson, J.S.; Burkly, L.C.; Putterman, C. Inhibition of the TWEAK/Fn14 pathway attenuates renal disease in nephrotoxic serum nephritis. *Clin. Immunol.* **2012**, *145*, 108–121. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
77. Campbell, S.; Burkly, L.C.; Gao, H.-X.; Berman, J.W.; Su, L.; Browning, B.; Zheng, T.; Schiffer, L.; Michaelson, J.S.; Putterman, C. Proinflammatory effects of TWEAK/Fn14 interactions in glomerular mesangial cells. *J. Immunol.* **2006**, *176*, 1889–1898. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Gao, H.-X.; Campbell, S.R.; Burkly, L.C.; Jakubowski, A.; Jarchum, I.; Banas, B.; Saleem, M.A.; Mathieson, P.W.; Berman, J.W.; Michaelson, J.S. TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) induces inflammatory and proliferative effects in human kidney cells. *Cytokine* **2009**, *46*, 24–35. [[CrossRef](#)]
79. Lynch, C.N.; Wang, Y.C.; Lund, J.K.; Chen, Y.-W.; Leal, J.A.; Wiley, S.R. TWEAK induces angiogenesis and proliferation of endothelial cells. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 8455–8459. [[CrossRef](#)]
80. Justo, P.; Sanz, A.; Sanchez-Niño, M.; Winkles, J.; Lorz, C.; Egido, J.; Ortiz, A. Cytokine cooperation in renal tubular cell injury: The role of TWEAK. *Kidney Int.* **2006**, *70*, 1750–1758. [[CrossRef](#)]
81. Sanz, A.B.; Sanchez-Niño, M.D.; Izquierdo, M.C.; Jakubowski, A.; Justo, P.; Blanco-Colio, L.M.; Ruiz-Ortega, M.; Egido, J.; Ortiz, A. Tweak induces proliferation in renal tubular epithelium: A role in uninephrectomy induced renal hyperplasia. *J. Cell. Mol. Med.* **2009**, *13*, 3329–3342. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Sanz, A.B.; Sanchez-Niño, M.D.; Ortiz, A. TWEAK, a multifunctional cytokine in kidney injury. *Kidney Int.* **2011**, *80*, 708–718. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Schwartz, N.; Su, L.; Burkly, L.C.; Mackay, M.; Aranow, C.; Kollaros, M.; Michaelson, J.S.; Rovin, B.; Putterman, C. Urinary TWEAK and the activity of lupus nephritis. *J. Autoimmun.* **2006**, *27*, 242–250. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Schwartz, N.; Rubinstein, T.; Burkly, L.C.; Collins, C.E.; Blanco, I.; Su, L.; Hojaili, B.; Mackay, M.; Aranow, C.; Stohl, W. Urinary TWEAK as a biomarker of lupus nephritis: A multicenter cohort study. *Arthritis Res. Ther.* **2009**, *11*, R143. [[CrossRef](#)]
85. Lu, J.; Kwan, B.C.H.; Lai, F.M.M.; Choi, P.C.L.; Tam, L.S.; Li, E.K.M.; Chow, K.M.; Wang, G.; Li, P.K.T.; Szeto, C.C. Gene expression of TWEAK/Fn14 and IP-10/CXCR3 in glomerulus and tubulointerstitium of patients with lupus nephritis. *Nephrology* **2011**, *16*, 426–432. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
86. Baisantry, A.; Bhayana, S.; Rong, S.; Ermeling, E.; Wrede, C.; Hegermann, J.; Pennekamp, P.; Sörensen-Zender, I.; Haller, H.; Melk, A. Autophagy induces prosenescent changes in proximal tubular S3 segments. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* **2016**, *27*, 1609. [[CrossRef](#)]
87. Meseguer, A.; Catterall, J.F. Mouse kidney androgen-regulated protein messenger ribonucleic acid is expressed in the proximal convoluted tubules. *Mol. Endocrinol.* **1987**, *1*, 535–541. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
88. Tornavaca, O.; Pascual, G.; Barreiro, M.; Grande, M.; Carretero, A.; Riera, M.; Garcia-Arumi, E.; Bardaji, B.; González-Núñez, M.; Montero, M. Kidney androgen-regulated protein transgenic mice show hypertension and renal alterations mediated by oxidative stress. *Circulation* **2009**, *119*, 1908–1917. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
89. de Quixano, B.B.; Villena, J.A.; Aranda, M.; Brils, G.; Cuevas, A.; Hespel, T.; Lekuona, H.; Suárez, C.; Tornavaca, O.; Meseguer, A. Kidney androgen-regulated protein (KAP) transgenic mice are protected against high-fat diet induced metabolic syndrome. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 16102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Tornavaca, O.; Sarro, E.; Pascual, G.; Bardaji, B.; Montero, M.A.; Salcedo, M.T.; Plana, M.; Lopez-Hellin, J.; Itarte, E.; Meseguer, A. KAP degradation by calpain is associated with CK2 phosphorylation and provides a novel mechanism for cyclosporine A-induced proximal tubule injury. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e25746. [[CrossRef](#)]
91. Melchinger, H.; Calderon-Gutierrez, F.; Obeid, W.; Xu, L.; Shaw, M.M.; Luciano, R.L.; Kuperman, M.; Moeckel, G.W.; Kashgarian, M.; Wilson, F.P. Urine uromodulin as a biomarker of kidney tubulointerstitial fibrosis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2022**, *17*, 1284–1292. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

92. Rampoldi, L.; Scolari, F.; Amoroso, A.; Ghiggeri, G.; Devuyst, O. The rediscovery of uromodulin (Tamm–Horsfall protein): From tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease. *Kidney Int.* **2011**, *80*, 338–347. [CrossRef] [PubMed]
93. Köttgen, A.; Glazer, N.L.; Dehghan, A.; Hwang, S.-J.; Katz, R.; Li, M.; Yang, Q.; Gudnason, V.; Launer, L.J.; Harris, T.B. Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nat. Genet.* **2009**, *41*, 712–717. [CrossRef] [PubMed]
94. Köttgen, A.; Pattaro, C.; Böger, C.A.; Fuchsberger, C.; Olden, M.; Glazer, N.L.; Parsa, A.; Gao, X.; Yang, Q.; Smith, A.V. New loci associated with kidney function and chronic kidney disease. *Nat. Genet.* **2010**, *42*, 376–384. [CrossRef] [PubMed]
95. Jennings, P.; Aydin, S.; Kotanko, P.; Lechner, J.; Lhotta, K.; Williams, S.; Thakker, R.V.; Pfaller, W. Membrane targeting and secretion of mutant uromodulin in familial juvenile hyperuricemic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2007**, *18*, 264–273. [CrossRef] [PubMed]
96. El-Achkar, T.M.; Wu, X.-R.; Rauchman, M.; McCracken, R.; Kiefer, S.; Dagher, P.C. Tamm-Horsfall protein protects the kidney from ischemic injury by decreasing inflammation and altering TLR4 expression. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* **2008**, *295*, F534–F544. [CrossRef] [PubMed]
97. Pugliese, N.R.; Masi, S.; Taddei, S. The renin-angiotensin-aldosterone system: A crossroad from arterial hypertension to heart failure. *Heart Fail. Rev.* **2020**, *25*, 31–42. [CrossRef] [PubMed]
98. Sparks, M.A.; Crowley, S.D.; Gurley, S.B.; Mirotso, M.; Coffman, T.M. Classical renin-angiotensin system in kidney physiology. *Compr. Physiol.* **2014**, *4*, 1201. [PubMed]
99. Živná, M.; Hůlková, H.; Matignon, M.; Hodaňová, K.; Vylet’al, P.; Kalbáčová, M.; Barešová, V.; Sikora, J.; Blažková, H.; Živný, J. Dominant renin gene mutations associated with early-onset hyperuricemia, anemia, and chronic kidney failure. *Am. J. Hum. Genet.* **2009**, *85*, 204–213. [CrossRef]
100. Gorelik, L.; Gilbride, K.; Dobles, M.; Kalled, S.L.; Zandman, D.; Scott, M.L. Normal B cell homeostasis requires B cell activation factor production by radiation-resistant cells. *J. Exp. Med.* **2003**, *198*, 937–945. [CrossRef]
101. Schiemann, B.; Gommerman, J.L.; Vora, K.; Cachero, T.G.; Shulga-Morskaya, S.; Dobles, M.; Frew, E.; Scott, M.L. An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA-independent pathway. *Science* **2001**, *293*, 2111–2114. [CrossRef] [PubMed]
102. Sasaki, Y.; Casola, S.; Kutok, J.L.; Rajewsky, K.; Schmidt-Supprian, M. TNF family member B cell-activating factor (BAFF) receptor-dependent and-independent roles for BAFF in B cell physiology. *J. Immunol.* **2004**, *173*, 2245–2252. [CrossRef] [PubMed]
103. Song, H.K.; Hwang, D.Y. Use of C57BL/6N mice on the variety of immunological researches. *Lab. Anim. Res.* **2017**, *33*, 119–123. [CrossRef] [PubMed]
104. Salant, D.J.; Cybulsky, A.V. [38] Experimental glomerulonephritis glomerulonephritis. In *Methods in Enzymology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1988; Volume 162, pp. 421–461.
105. Dülsner, A.; Hack, R.; Krüger, C.; Pils, M.; Scherer, K.; Schmelting, B.; Schmidt, M.; Weinert, H.; Jourdan, T. Empfehlung zur Substanzapplikation bei Versuchstieren. *Fachinf. Aus Dem Aussch. Für Tierschutzbeauftragte Und Dem Arbeitskreis* **2017**, *4*, 1–8.
106. Bray, N.L.; Pimentel, H.; Melsted, P.; Pachter, L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nat. Biotechnol.* **2016**, *34*, 525–527. [CrossRef] [PubMed]
107. Love, M.I.; Huber, W.; Anders, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* **2014**, *15*, 550. [CrossRef]
108. Benjamini, Y.; Hochberg, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* **1995**, *57*, 289–300. [CrossRef]
109. Blighe, K.; Rana, S.; Lewis, M. EnhancedVolcano: Publication-Ready Volcano Plots with Enhanced Colouring and Labeling. Available online: <https://github.com/kevinblighe/EnhancedVolcano> (accessed on 4 November 2022).
110. Wickham, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2016.

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

5.2.2 Erklärung zum Eigenanteil der Promovendin

Tamara Möckel ist alleinige Erstautorin der Publikation *Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis* [88], die unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Andreas Schwarting im Rahmen der kumulativen Dissertation angefertigt wurde. Für die Konzeptualisierung des Projekts, die Projektadministration und die dafür nötigen Ressourcen waren Herr Prof. Dr. Andreas Schwarting und Tamara Möckel gemeinsam zuständig. Den für die Untersuchungen erforderlichen Tierversuchsantrag hat Frau Möckel selbstständig geschrieben und alle dafür relevanten Kommunikationen geführt.

Frau Möckel war seitens der Arbeitsgruppe alleinig für die Haltung, Zucht sowie den Import der entsprechenden Mausstämme in enger Zusammenarbeit mit den Mitarbeitern und Tierpflegern des *Translational Animal Research Center* (TARC) der Universitätsmedizin Mainz zuständig. Sie war für die Versuchsplanung und die daran orientierte Zuchtplanung verantwortlich. Die Planung, Realisierung und Anwendung der Methoden im Rahmen der praktischen Versuchsdurchführung und nachfolgenden Probenbearbeitung wurden von Frau Möckel vorgenommen. Sie hat in ihrer Funktion der Experimentatorin den Eingriff mit der Assistenz der MTA (Medizinisch-Technische Assistentin) Frau Bettina Steinmann durchgeführt. Neben der Routineversorgung durch die Tierpfleger des TARC wurden seitens der Arbeitsgruppe die Mäuse vor, während und nach dem Eingriff alleinig von Frau Möckel beaufsichtigt und betreut. Alle hierfür relevanten Dokumentationen sind von ihr geführt worden.

Frau Möckel hat in Bezug auf die in der Publikation dargestellten Ergebnisse die Organentnahme sowie RNA-Isolation durchgeführt, den Probentransport, die Beauftragung der Sequenzierung bei der StarSEQ GmbH in Mainz und den Datentransfer sowie die Datenarchivierung der bioinformatischen Rohdaten organisiert. Sie hat zudem die zur Auswertung nötigen Analysen geplant. Die Aufbereitung der bioinformatischen Rohdaten und Analysen wurden von Herrn Dr. Sebastian Boegel durchgeführt. Die dafür nötige Software wurde von ihm ausgewählt und verwendet. Alle zur Auswertung nötigen Datensätze wurden Frau Möckel zur weiteren Bearbeitung zur Verfügung gestellt.

Frau Möckel hat die Daten gesichtet, ausgewertet, interpretiert und in den Kontext der untersuchten chronischen Nierenschädigung gesetzt. Die Ergebnis-Visualisierungen wurden von Frau Möckel erdacht und von Herrn Dr. Boegel umgesetzt. **Figure 5** wurde von Frau Möckel für die Publikation mit BioRender.com erstellt. Frau Möckel und Herr Dr. Boegel waren gemeinsam für die Validierung der Ergebnisse zuständig. Anhand der Ergebnisse hat Frau Möckel

eigenständig den Manuskript-Entwurf der vorliegenden Publikation erstellt und Herrn Dr. Sebastian Boegel sowie Herrn Prof. Dr. Andreas Schwarting zur Revision vorgelegt. Frau Möckel hat die sich anschließende Überarbeitung vorgenommen und die finale Fassung des Manuskriptes eingereicht. Dabei führte sie bis zur Veröffentlichung die gesamte Kommunikation mit den Gutachtern und dem Journal.

Die Darlegung des Eigenanteils der Promovendin Tamara Möckel an der Publikation *Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis* wurde vom Betreuer Herrn Prof. Dr. Andreas Schwarting in der hier vorliegenden Fassung gelesen und bestätigt.

6 Synopse und Diskussion

In beiden Publikationen wurde mittels Transkriptomanalyse der Niere die Rolle des Cytokins BAFF und dessen Rezeptor BAFF-R im Rahmen von Nierenschädigungen in BAFF-ko- und BAFF-R-ko-Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen untersucht.

Im ersten Schädigungsmodell, der unilateral durchgeführten Ischämie/Reperfusion (I/R), wurde das Transkriptom der ischämischen wie kontralateralen Niere nach einer Reperfusionszeit von drei Tagen analysiert, um einen Eindruck der regulierten Gene, welche in der Pathophysiologie der akuten Nierenschädigung eine Rolle spielen, zu erhalten [67]. Im zweiten Nierenschädigungsmodell, der Nephrotoxischen Serum Nephritis (NTN), führte die Injektion von Immunglobulinen G (IgG) als Nephrotoxisches Serum (NTS) zur Entstehung einer renalen Fibrose und Ausbildung einer Glomerulonephritis. Das renale Transkriptom wurde hierbei 21 Tage nach der Injektion des NTS in Hinblick auf differenziell exprimierte Gene analysiert [88].

Nachfolgend werden die detektierten, potenziellen Biomarker, deren Expressionsmuster in Bezug auf den Knockout des Cytokins BAFF und des BAFF-R sowie die Signalwege in den beiden angewandten Nierenschädigungsmodellen zusammengefasst und gegenübergestellt.

6.1 Genregulation in den Nierenschädigungsmodellen

Die renale Transkriptomanalyse der beiden Nierenschädigungsmodelle ergab eine Reihe differenziell exprimierter Gene, die z. T. als Biomarker in Betracht gezogen werden können. Eine Übersicht der detektierten Gene wird in den nächsten beiden Unterpunkten gegeben.

6.1.1 Renale Genregulation im I/R-Modell

In der akuten Phase der durch Ischämie/Reperfusion (I/R) induzierten Nierenschädigung wurden in der Transkriptomanalyse der Nieren drei Tage nach dem Eingriff 35.827 Gene untersucht, von denen – im Vergleich zu den kontralateralen Kontroll-Nieren – insgesamt 1.905 in den ischämischen Nieren differenziell reguliert waren. 1.364 dieser Gene waren dabei hochreguliert, 541 runterreguliert. Demnach waren in den ischämischen Nieren, unabhängig vom Genotyp, mehr Gene hoch- als runterreguliert im Vergleich zu den kontralateralen Kontroll-Nieren.

In der durchgeführten *Principal Component Analysis* (PCA) ließen sich zwei Cluster abbilden. Bis auf eine Probe, die aus den nachfolgenden Analysen ausgeschlossen wurde, bildeten die Proben der ischämischen Nieren sowie kontralateralen Kontroll-Nieren jeweils eine distinkte Gruppe (siehe Anhang, 10.1, *Supplement S1 Fig.*).

Unabhängig vom Stamm und Genotyp waren die folgenden vier Gene im verwendeten Modell hochreguliert und dabei auch unter den Top 40 der differenziell exprimierten Gene: *Havcr1*, *Lcn2*, *Lyz2* und *Cd44*.

Havcr1 war in ischämischen Nieren von Knockout- wie Wildtyp-Mäusen beider Stämme hochreguliert. Die Expression war im BAFF ko höher im Vergleich zu den Wildtyp-Geschwistertieren und im BAFF-R-Stamm im Vergleich zum Knockout höher im Wildtyp. In den kontralateralen Kontroll-Nieren wurde jeweils keine *Havcr1*-Expression detektiert.

Die *Lcn2*-Expression war, verglichen mit den Nieren der Wildtyp-Geschwistertiere, niedriger in den BAFF-ko-Nieren. Der BAFF-R ko wies eine leicht höhere Expression von *Lcn2* im Vergleich zum Wildtyp auf. Auch hier war wieder keine Expression in den kontralateralen Kontroll-Nieren beider Stämme detektierbar.

Die Expression von *Lyz2* war in den BAFF-ko-Nieren neben der Betrachtung mit den Wildtypen niedriger. Das Expressionslevel von *Lyz2* war in Nieren des BAFF-R ko höher im Vergleich zum Wildtyp. Keine *Lyz2*-Expression wurde in den kontralateralen Kontroll-Nieren detektiert.

Die *Cd44*-Expression im BAFF-Stamm war im Knockout niedriger verglichen mit dem Wildtyp. Im BAFF-R-Stamm war die Expression von *Cd44* im Knockout höher im Vergleich zum Wildtyp. Keine Expression von *Cd44* konnte in den kontralateralen Kontroll-Nieren beider Stämme detektiert werden.

Darüber hinaus waren auch die folgenden Gene hochreguliert: *Fn1* und *Il1rn*.

Die Expression von *Fn1* war im BAFF ko niedriger im Vergleich zu den Wildtyp-Nieren. Im BAFF-R ko war die Expression höher verglichen mit den Wildtypen. Unabhängig von Stamm und Genotyp wurde keine *Fn1*-Expression in den kontralateralen Kontroll-Nieren detektiert.

Il1rn wies eine leicht niedrigere Expression in BAFF-ko-Nieren im Vergleich zu den Wildtyp-Nieren auf. In BAFF-R-ko-Nieren war die Expression höher im Vergleich zu den Wildtypen. Keine Expression wurde in den kontralateralen Kontroll-Nieren, unabhängig vom Stamm und von den Genotypen, detektiert.

Lcn2, Lyz2, CD44, Fn1 und Il1rn waren somit im BAFF ko nach I/R hochreguliert, aber weniger stark im Vergleich zum Wildtyp. Ebenfalls waren diese Gene im BAFF-R ko hochreguliert, jedoch stärker im Vergleich zum Wildtyp. Für Havcr1 traf Gegenteiliges zu: Die Expression war im BAFF ko höher im Vergleich zu den Wildtypen und niedriger im BAFF-R ko im Vergleich zu den entsprechenden Wildtypen.

Neben den hochregulierten Genen wurde mit K1 ein Gen untersucht, welches durch die Ischämie/Reperfusion runterreguliert wurde. Im BAFF ko war die K1-Expression im Vergleich zu den Wildtypen höher und im BAFF-R ko verglichen mit den Wildtypen niedriger. In den kontralateralen Kontroll-Nieren beider Stämme war die Expression von K1 jeweils höher im Vergleich zur Expression in den ischämischen Nieren.

Grundsätzlich wurde für alle aufgeführten Gene ein unterschiedliches Expressionsmuster in Bezug auf die beiden Knockouts detektiert, die unter 6.2 weiter beschrieben werden.

6.1.2 Renale Generegulation im NTN-Modell

In der chronischen Phase der durch Injektion eines Nephrotoxischen Serums (NTS) induzierten Nierenschädigung in Form einer Nephrotoxischen Serum Nephritis (NTN) wurden in der Transkriptomanalyse der Nieren 21 Tage nach der Injektion 35.827 Gene untersucht. In den BAFF-ko-Nieren wurden dabei im Vergleich zu den Nieren eines Wildtyp-Stammes 51 hoch- und 53 runterregulierte Gene detektiert. Für den BAFF-R ko im Vergleich zum Wildtyp-Stamm waren es 77 hoch- und 82 runterregulierte Gene. In der Analyse des I/R-Modells waren deutlich mehr Gene differenziell exprimiert (siehe 6.1.1). Dies ist darin begründet, dass bei der Transkriptomanalyse jeweils zwei verschiedene Zustände – ischämische und kontralaterale Kontroll-Nieren – gegeneinander verglichen wurden. Bei der Analyse des NTN-Modells wurden Nieren gleicher Zustände, jeweils nach Injektion des NTS, miteinander verglichen. Aufgrund dessen waren bei diesem Modell keine so großen Unterschiede im Vergleich zum I/R-Modell zu erwarten.

In der chronischen Phase einer Nierenschädigung kommt es zur Ausbildung einer renalen Fibrose. Der Surrogatmarker Kollagen Typ III (Col3a1) war in den Nieren aller drei Mausstämme hochreguliert, wie es bei der Entwicklung einer Nierenfibrose anzunehmen war. Dabei war das Expressions-Level von Col3a1 im BAFF-R ko genauso wie im Wildtyp ähnlich ausgeprägt und höher im Vergleich zum BAFF ko.

Die Transkriptomanalyse zeigte weitere sieben regulierte Gene in den drei untersuchten Maus-Stämmen: Gpx3, Igfbp7, Ccn2, Kap, Umod, Ren1 und Txnip.

Das Expressionsmuster von Txnip glich dabei dem von Col3a1 mit einer niedrigeren Expression in BAFF-ko-Nieren und einer ähnlich höheren Expression im BAFF-R ko und Wildtyp. Auch für Gpx3, Igfbp7 und Ccn2 wurde eine höhere Expression im BAFF-R ko detektiert. Die Expression war im Wildtyp-Stamm jedoch niedriger und ähnlich zu den BAFF-ko-Nieren. Für Kap und Umod waren die Expressionsmuster ähnlich, höher im Wildtyp-Stamm und niedriger im BAFF ko und BAFF-R ko. Bei Ren1 war die Expression in BAFF ko und BAFF-R ko ebenfalls ähnlich, jedoch höher im Vergleich zum Wildtyp-Stamm. Somit konnten wie bereits für das I/R-Modell diskutiert unterschiedliche Expressionsmuster in Bezug auf den BAFF ko und BAFF-R ko detektiert werden, die unter 6.2 fortführend betrachtet werden.

6.2 Expressionsmuster in Bezug auf BAFF ko und BAFF-R ko

In beiden durchgeführten Nierenschädigungsmodellen konnten für die analysierten, differenziell exprimierten Gene unterschiedliche Expressionsmuster in Hinblick auf die Mausstämmen und deren Genotypen detektiert werden. Nachfolgend wird deren Bedeutung diskutiert.

6.2.1 Expressionsmuster im I/R-Modell

Im I/R-Modell war die Expression der hochregulierten Gene Lcn2, Lyz2, CD44, Fn1 und Il1rn im BAFF ko niedriger im Vergleich zum BAFF-R ko (siehe **Tab. 2**, S. 70). Ein umgekehrtes Bild ergab sich für das runterregulierte Gen Kl (siehe **Tab. 2**, S. 70). Hier war das Expressions-Level im BAFF ko höher und im BAFF-R ko niedriger.

Tab. 2. Expressionsmuster differenziell exprimierter Gene im I/R-Modell in Bezug auf den BAFF- und BAFF-R-Knockout.

Gen	Regulation im I/R-Modell	Vergleich Expressions-Level BAFF ko und BAFF-R ko		Aktueller Wissensstand
		↑	↓	
Havcr1	↑	BAFF ko	BAFF-R ko	Assoziation mit AKI
Lcn2	↑	BAFF-R ko	BAFF ko	potenzieller Biomarker
Lyz2	↑	BAFF-R ko	BAFF ko	nephrotoxisch
CD44	↑	BAFF-R ko	BAFF ko	Assoziation mit Nierenerkrankungen
Il1rn	↑	BAFF-R ko	BAFF ko	Assoziation myokardiale I/R
Fn1	↑	BAFF-R ko	BAFF ko	Inflammation, Apoptose
Kl	↓	BAFF ko	BAFF-R ko	Homöostase der Niere (Calcium- u. Phosphat-Transport)

AKI: *acute kidney injury*, BAFF: B-Zellen-Aktivierungsfaktor, BAFF-R: B-Zellen-Aktivierungsfaktor-Rezeptor, Cd44: *CD44 antigen*, Fn1: *Fibronectin 1*, Havcr1: *Hepatitis A virus cellular receptor 1*, I/R: Ischämie/Reperfusion, Il1rn: *Interleukin-1 receptor antagonist*, Kl: *Klotho*. ko: Knockout, Lcn2: *Lipocalin-2*, Lyz2: *Lysozyme 2*, ↑: Hochregulation, ↓: Runterregulation.

Lcn2 ist der Gename für das Neutrophilen-Gelatinase-assoziierte Lipocalin (Abk. NGAL), welches eines der am stärksten induzierten Gene nach einer renalen I/R ist [90]. Auch in der vorliegenden Arbeit zählte Lcn2 zu den Top 40 differenziell exprimierten Genen drei Tage nach der I/R. In einer genomweiten Abfrage zur Identifikation renaler Gene mit einer frühen Induktion in Tiermodellen wurde NGAL bereits als potenzieller Biomarker der Initiations-Phase einer akuten Nierenschädigung identifiziert [74, 91]. Die Daten der vorliegenden Arbeit bestätigen dies. Lcn2 war in allen ischämischen Nieren im Vergleich zu den kontralateralen Kontroll-Nieren hochreguliert.

Es wurde bereits gezeigt, dass NGAL renal in den proximalen TEZ und den distalen Nephron-Segmenten hochreguliert wird [90]. Daher wird angenommen, dass NGAL von geschädigten TEZ im Zuge der Re-Epithelialisierung exprimiert wird [92]. Vor diesem Hintergrund ist das niedrigere Expressions-Level von Lcn2 in BAFF-ko-Nieren im Vergleich zu den Wildtyp-Nieren ein Indiz für einen abgemilderten Nierenschaden durch den Knockout des Cytokins BAFF. In den BAFF-R-ko-Nieren war die Expression dahingegen höher im Vergleich zu den Wildtypen, was für eine Verstärkung des Nierenschadens spricht.

Das bakteriolytische Enzym Lysozym (Genname: Lyz) ist eine wichtige Komponente des innate Immunsystems. Die Studie von Prockop und Davidson untersuchte 1964 erstmalig den Effekt der glomerulären oder tubulären Schädigung durch Lysozym-Exkretion und diskutierte die Lysozymurie als prognostischen wie diagnostischen Indikator einer renalen Schädigung [93]. Beim akuten Nierenversagen wurden Veränderungen in den Urin- und Serum-Leveln von Lysozym festgestellt [94]. Die intravenöse Injektion von Lysozym löst renal funktionelle sowie strukturelle Veränderungen, gefolgt von einem akuten Nierenversagen in männlichen Ratten aus [95].

Der nephrotoxische Effekt von Lysozym wird im Fallbericht von Patel *et al.* [96] im Jahr 2009 deutlich. Die Überproduktion von Lysozym durch Tumorzellen in Patienten mit chronischer myelomonozytären Leukämie (CMML) schädigt die proximalen TEZ und führt somit zum Nierenversagen [97-99]. In Bezug auf chronische Nierenerkrankungen wurde Lysozym neben anderen CKD-assoziierten Plasmaproteinen in einem *multiple reaction monitoring* (MRM) *mass spectrometry* (MS) *assay* gemessen, um dessen Assoziation mit der Nierenfunktion und dem Krankheitsausgang zu bestimmen [100].

Die vorliegende Arbeit ist zum Zeitpunkt der ersten Publikation der erste Bericht über die Hochregulierung von Lysozym 2 (Genname: Lyz2) in einem murinen I/R-Modell der Nieren und bestärkt einmal mehr, dass Lysozym als Biomarker für renale Schädigungen in Betracht gezogen werden sollte. Lyz2 war in BAFF-ko-Nieren niedriger und in BAFF-R-ko-Nieren höher exprimiert im Vergleich zu den Nieren der Wildtyp-Geschwistertiere. Dies deutet erneut darauf hin, dass der Knockout des Cytokins BAFF den renalen Schaden durch die I/R abmildert, wohingegen der BAFF-R ko diesen verschlimmert.

Das Glykoprotein CD44 spielt eine wichtige Rolle für die Zellmigration, Adhäsion und interepitheliale Zell-Interaktionen [101-103]. Bei inflammatorisch wie immunologisch bedingten Nierenerkrankungen ist die Expression von CD44 in den Glomeruli wie TEZ hochreguliert [104-107]. Darüber hinaus ist bekannt, dass die CD44-Expression in der frühen Phase nach einer I/R erhöht ist [108]. Dies deckt sich mit den Resultaten der vorliegenden Arbeit, in der ebenfalls eine Hochregulation von CD44 in den ischämischen Nieren aller Mausstämme drei Tage nach I/R detektiert werden konnte. Die Nierenschädigung wird in der postischämischen Niere durch die Beteiligung von CD44 an der Migration von Neutrophilen hervorgerufen [109]. Im BAFF ko war die Expression von CD44 im Vergleich zu den Wildtyp-Nieren niedriger und im BAFF-R ko höher, wieder verglichen mit den entsprechenden Wildtyp-Nieren. Auch hier scheint der Knockout von BAFF die Nierenschädigung abzumildern, der BAFF-R-Knockout diese jedoch zu verstärken.

Fn1 ist der Genname von *Fibronectin 1*, welches ein Glykoprotein ist und an der zellulären Adhesion, Wachstum und Angiogenese beteiligt ist [siehe Übersichtsarbeit 110]. Die Hochregulation von *Fibronectin 1* konnte bereits für das I/R-Modell des Herzens gezeigt werden [111]. Die Inhibition von *Fibronectin 1* führt dabei zu einer Reduktion der myokardialen Infarktgröße und Inflammation, während sich oxidativer Stress sowie die Fibrose verbessern [111]. Die vorliegende Arbeit konnte die Hochregulation von *Fibronectin 1* für das I/R-Modell der Niere in BAFF ko wie BAFF-R ko und Wildtypen zeigen. Die Fn1-Expression war in BAFF-ko-Nieren im Vergleich zum Wildtyp niedriger, jedoch höher im BAFF-R ko verglichen mit dem Wildtyp. Erneut weist dies auf eine geringere Schädigung der Niere im Fall des BAFF-Knockouts und einen größeren Schaden beim BAFF-R ko hin.

Il1rn ist der Genname für den Interleukin-1-Rezeptor-Antagonisten (IL-1RA). Dessen Bindung an den Interleukin-1-Rezeptor inhibiert den Signalweg von Interleukin-1, was Inflammations-Prozesse und Apoptose zur Folge hat [112, 113]. Die Verabreichung von rekombinantem IL-1RA konnte den renalen I/R-Schaden abmildern [114]. Die niedrigere Expression im BAFF-ko-Stamm würde daher für eine schwächere renale Schädigung durch die I/R sprechen und dafür, dass der BAFF-R ko die Schädigung verstärkt.

Im Gegensatz zu den bereits diskutierten Genen wurde Klotho (Genname: Kl) im Zuge der I/R runterreguliert. Die Nieren weisen das höchste Expressions-Level von α -Klotho auf und sind vermutlich die Hauptquelle löslichen Klothos in der Zirkulation [115]. Der Calcium- und Phosphat-Transport in den Nieren wird von α -Klotho reguliert. Ferner agiert α -Klotho als Co-Rezeptor für den Fibroblasten-Wachstumsfaktor 23 (FGF23: *fibroblast growth factor 23*) [116, 117]. Es ist bekannt, dass die α -Klotho-Level während einer akuten Nierenschädigung gering sind [118, 119]. Auch während der I/R-Schädigung sind die α -Klotho-Level verringert [119, 120].

Dies deckt sich mit der Tatsache, dass die Expression von Kl in der vorliegenden Arbeit in den ischämischen Nieren im Vergleich zu den kontralateralen Kontrollen runterreguliert war. Aufgrund des Fehlens von α -Klotho kommt es zur renalen Apoptose wie Calcifizierung und somit zur Nierenschädigung [121]. Die detektierten Expressionsmuster von Lcn2, Lyz2, Cd44, Fn1 und Il1rn konnten ebenso für Kl in umgekehrter Weise für den BAFF ko und BAFF-R ko detektiert werden. Die Expression von Kl war in BAFF-ko-Nieren im Vergleich zu den Wildtypen höher und im BAFF-R ko verglichen mit den Wildtypen niedriger. Dies unterstützt des Weiteren die Annahme, dass der Knockout von BAFF einen mildernden Effekt auf die Nierenschädigung im I/R-Modell und der BAFF-R ko einen verstärkenden Effekt auf die renale I/R-Schädigung hat.

Havcr1 (*hepatitis A virus cellular receptor 1*), ebenfalls unter der Bezeichnung KIM-1 (*Kidney Injury Molecule-1*) bekannt, war ebenfalls in ischämischen Nieren hochreguliert, jedoch zeigte sich hier ein anderes Expressionsmuster im Vergleich zu den restlichen hochregulierten Genen. Die Expression war im BAFF ko höher im Vergleich zum BAFF-R ko (siehe **Tab. 2**, S. 70).

Die Expression des proximal-apikalen Tubulus-Transmembranproteins KIM-1 ist unter physiologischen Bedingungen niedrig. Biopsien und Urin von Patienten mit akuter tubulärer Nekrose weisen eine erhöhte Expression auf [122]. Bei Ratten ist die Havcr1-Expression 48 Stunden nach einer unilateralen I/R in proximalen TEZ erhöht [123]. Die Havcr1-Expression korreliert mit Entzündungen, Fibrose und der renalen Funktion [124]. Havcr1 ist eng mit der akuten Nierenschädigung verbunden [122, 125-130]. Vor diesem Hintergrund erscheint es widersprüchlich, von einer Abmilderung des renalen Schadens durch I/R im BAFF ko zu sprechen, obwohl hier die Havcr1-Expression höher ist und für den BAFF-R ko, bei dem die Havcr1-Expression niedriger ist, den Effekt der Verstärkung des Schadens zu diskutieren.

KIM-1 weist tatsächlich einige, scheinbar im Widerspruch zueinanderstehende Funktionen auf. Während einer akuten Nierenschädigung vermittelt KIM-1 die Phagozytose von apoptotischen Zellen und schützt die Nieren durch Runterregulierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B, was zur Reduktion der Inflammation führt [131]. Allerdings ist auch bekannt, dass KIM-1 inflammatorische Signale in TEZ ohne einen Schädigungsreiz von selbst aktivieren kann und somit eine renale Inflammation provoziert [132]. Es ist bekannt, dass hypoxische TEZ kleine extrazelluläre Vesikel (sEVs: *small extracellular vesicles*) freisetzen, die wiederum von KIM-1 exprimierenden TEZ aufgenommen werden [133]. KIM-1 fungiert hierbei durch das Erkennen von Phosphatidylserin auf der Oberfläche der Vesikel als Membranrezeptor. Auf diese Weise wird die tubulointerstitielle Inflammation, induziert durch Hypoxie, verstärkt [133].

Aktuell ist unklar, welches Signal darüber entscheidet, ob KIM-1 einen protektiven Effekt auf geschädigte Nieren ausübt oder nicht. Unter der Annahme, dass KIM-1 eine protektive Funktion im angewandten I/R-Modell ausübt, würde der BAFF ko diesen positiven Effekt im Vergleich zu den Wildtypen verstärken und der BAFF-R ko abschwächen. Dies wäre im Einklang mit den restlichen Ergebnissen. Ohne die exakte Signalisierung von KIM-1 in der vorliegenden Arbeit zu kennen, kann die höhere Expression von Havcr1 in ischämischen BAFF-ko-Nieren im Vergleich zu den Wildtypen nicht final eingeordnet werden.

6.2.2 Expressionsmuster im NTN-Modell

Im NTN-Modell wurden ausschließlich hochregulierte Gene analysiert. Die Expression von *Txnip*, *Gpx3*, *Igfbp7* und *Ccn2* war im BAFF ko niedriger im Vergleich zum Knockout des BAFF-R (siehe **Tab. 3**, S. 75). Für die Gene *Kap*, *Umod* und *Ren1* zeigte sich im BAFF- wie BAFF-R-Knockout jeweils ein ähnliches Expressionsmuster. Die Expression von *Kap* und *Umod* war dabei im Vergleich zum Wildtyp niedriger und für *Ren1* höher als im Wildtyp (siehe **Tab. 3**, S. 75).

Somit war es auch bei der Analyse des NTN-Modells möglich, unterschiedliche Expressionsmuster der differenziell regulierten Gene in Bezug auf die beiden Knockouts zu detektieren. Jedoch waren diese nicht so eindeutig abzulesen wie bei der Analyse des I/R-Modells. Wie bereits unter 6.1.2 diskutiert, ist dies damit zu begründen, dass im I/R-Modell zwei verschiedene Zustände – ischämisch wie kontralateral – innerhalb eines Stammes und Genotyps miteinander verglichen wurden. Weiterhin wurden die ischämischen und kontralateralen Kontrollnieren im Vergleich zu anderen Stämmen betrachtet.

Tab. 3. Expressionsmuster differenziell exprimierter Gene im NTN-Modell in Bezug auf den BAFF- und BAFF-R-Knockout.

Gen	Regulation im NTN-Modell	Vergleich Expressions-Level BAFF ko und BAFF-R ko		Aktueller Wissensstand
		↑	↓	
Txnip	↑	BAFF-R ko	BAFF ko	Assoziation mit Nierenerkrankung
Gpx3	↑	BAFF-R ko	BAFF ko	Assoziation mit CKD
Igfbp7	↑	BAFF-R ko	BAFF ko	zugelassener Urin-Biomarker
Ccn2	↑	BAFF-R ko	BAFF ko	Assoziation renale Fibrose, potenzieller fibrotischer Marker
Kap	↑	-	BAFF ko BAFF-R ko	Funktion unbekannt, Expression in proximalen TEZ
Umod	↑	-	BAFF ko BAFF-R ko	Assoziation mit Nierenerkrankung
Ren1	↑	BAFF ko BAFF-R ko	-	Assoziation mit Nierenerkrankung

BAFF: B-Zellen-Aktivierungsfaktor, BAFF-R: B-Zellen-Aktivierungsfaktor-Rezeptor, Ccn2: *Cellular Communication Network Factor 2*, CKD: *chronic kidney disease*, Gpx3: *Glutathione Peroxidase 3*, Igfbp7: *Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 7*, Kap: *Kidney androgen regulated protein*, ko: Knockout, NTN: Nephrotoxische Serum Nephritis, Ren1: *Renin*, TEZ: Tubulus-Epithelzellen, Txnip: *Thioredoxin Interacting Protein*, Umod: *Uromodulin*, ↑: Hochregulation, ↓: Runterregulation.

Der BAFF-Knockout scheint im I/R-Modell einen positiven Einfluss auf die Nierenschädigung zu haben. Darüber hinaus ist ein Zusammenhang mit der immunologischen Signalvermittlung denkbar. Der Knockout des Cytokins BAFF führt zu einer Immundefizienz der Mäuse, bedingt durch einen signifikanten Verlust von B-Zellen und einer abgeschwächten T-Zell-abwie unabhängigen Antikörperantwort. Aufgrund dessen wurde mit dem NTN-Modell eine durch einen immunologischen Reiz vermittelte Nierenschädigung untersucht.

Hierbei wies bereits das Expressionsmuster des Surrogatmarkers Kollagen Typ III (Col3a1) aufgrund seiner niedrigeren Expression im BAFF ko auf eine protektive Funktion des Knockouts im NTN-Modell hin (siehe 6.1.2). Dies deckt sich ebenfalls mit der Literatur. Für die systemische Sklerose ist bekannt, dass BAFF die Expression von Kollagen und profibrotischen

Markern durch dermale Fibroblasten fördert [134]. Ferner schwächt die Inhibition von BAFF die Fibrose einer Sklerodermie-Erkrankung ab [135]. Ähnliches konnte auch für die hepatische Fibrose bei cholestatischen Lebererkrankungen gezeigt werden. Die Studie von Thapa *et al.* [136] zeigte im Jahr 2020, dass eine zielgerichtete Anti-BAFF-Therapie die Produktion von Autoantikörpern abschwächt und BAFF somit ein potenzielles Ziel für das Entgegenwirken einer hepatischen Fibrose darstellt. Zudem ist auch bekannt, dass B-Zellen die myokardiale Kollagen-Typ-I- und Kollagen-Typ-III-Expression fördern [137].

Dasselbe Expressionsmuster wurde für das *Thioredoxin Interacting Protein* (Txnip) detektiert. Dieses Gen zeigte die niedrigste Expression in Nieren des BAFF-ko-Stammes, wohingegen die Expression im BAFF-R ko und Wildtyp ähnlich war. Txnip ist ein Regulator von zellulären Redoxsignalen und schützt somit Zellen vor oxidativem Stress. Die Expression von Txnip ist in Nieren nach der unilateralen Ureter-Obstruktion (UUO) hochreguliert und ein Knockout von Txnip in Mäusen wirkt sich positiv auf den induzierten Nierenschaden aus [138]. Txnip scheint eine Rolle in der renalen Fibrose und Entstehung einer chronischen Nierenerkrankung zu spielen. Die Txnip-Expression ist signifikant erhöht in proteinurischen Nierenerkrankungen wie der fokal-segmentalen Glomerulosklerose (FSGS), membranöse Nephropathie (MN) und der diabetischen Nephropathie (DN) [139]. Die Inhibition durch CHOP Deletion supprimiert die NLRP3 Inflammasom-Aktivierung und p-ASK1-abhängige mitochondriale Apoptose, welche die Albuminurie senkt und die Nierenfunktion beim nephrotischen Syndrom (NS) verbessert [139].

Überdies wird die UUO-induzierte renale Inflammation durch Inhibition der Aktivierung des NF- κ B- und NLRP3-Inflammasoms supprimiert [138]. Txnip interagiert mit STAT3 und fördert durch Aktivierung des STAT3-Signalwegs die profibrotische Antwort [140]. Die Hochregulation wird beobachtet und steht im Verdacht, sowohl an pathologischen Signalwegen *in vitro* und *in vivo* in NS, UUO-induzierter renaler Fibrose, alterungsabhängiger renalen Fibrose und dem DN-Modell als auch an proteinurischen Nierenerkrankungen beteiligt zu sein. Die genetische Deletion von Txnip resultiert in der Reduktion von oxidativem Stress, renaler Fibrose und extrazellulärer Matrix-Akkumulation, Podocyten-Schädigung und Inflammation [138].

Die niedrigere Expression von Txnip in BAFF-ko-Nieren könnte implizieren, dass die Abwesenheit von BAFF protektive Effekte vermittelt. Interessanterweise deutet die höhere Expression im BAFF-R ko darauf hin, dass die Signalvermittlung durch BAFF den Ausgang der Nierenschädigung verschlechtert, diese Signale jedoch nicht über den BAFF-R vermittelt wer-

den. Die Tatsache, dass die Txnip-Expression in Wildtyp-Nieren ähnlich dem Expressionsmuster der Nieren im BAFF-R-Knockout-Stamm war, unterstützt diese Hypothese. Darüber hinaus haben wir bereits ähnliche Effekte in BAFF-ko- und BAFF-R-ko-Mäusen im Modell der akuten Nierenschädigung beobachtet [67].

Zusätzlich zeigten ebenfalls Gpx3, Igfbp7 und Ccn2 dieses Expressionsmuster mit höheren Leveln in BAFF-R-ko-Nieren im Vergleich zu den BAFF-ko-Nieren. *Glutathione Peroxidase 3* (Gpx3) ist ein Selenoprotein und katalysiert die Reduktion von organischen Hydroperoxiden und Wasserstoffperoxid über Glutathion und schützt dadurch Zellen vor oxidativen Schäden. Es wird primär von renalen TEZ des proximalen Abschnitts sekretiert [141, 142] und bindet *in vitro* wie auch *in vivo* an die Basalmembran der proximalen und distalen TEZ im renalen Cortex von Mäusen [143]. Es steht in Beziehung zum Signalweg ›zelluläre Antwort auf Stimuli‹ und die Aktivität von Gpx3 ist mit der CKD assoziiert. In CKD-Patienten sind die Level von Gpx3 im Vergleich zu gesunden Individuen reduziert [141, 144].

Eine andere Studie detektierte die Hochregulation von Gpx3 nach I/R-Schaden in Mäusen [145]. Daher könnte eine erhöhte Gpx3-Expression in BAFF-R-ko-Nieren bedeuten, dass der Nierenschaden größer ist und zu einer höheren Gpx3-Expression führt, um den Schaden zu kompensieren. Dennoch sagen Expressions-Level allein nichts über die Funktion und Aktivität auf Proteinebene aus. Das *Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 7* (Igfbp7) stimuliert die Zelladhäsion und steht in Zusammenhang mit dem Signalweg ›zellulären Antwort auf Stimuli‹.

Neben Timp-2, war Igfbp7 der erste Urin-Biomarker für die Risiko-Stratifikation in Hinblick auf die Entwicklung einer akuten Nierenschädigung, welcher 2014 von der FDA (*Food and Drug Administration*) genehmigt wurde [146, 147]. Igfbp7 wurde in allen drei Stämmen exprimiert, jedoch am stärksten im BAFF-R ko. Dies wiederum könnte bedeuten, dass der Schaden in diesem Mausstamm im Vergleich zum BAFF-ko- und dem Wildtyp-Stamm größer war. Der *Cellular Communication Network Factor 2* (Ccn2) ist eine Komponente der extrazellulären Matrix (ECM: *extracellular matrix*), der an zellulären Signalwegen beteiligt ist und mit der renalen Fibrose im Zusammenhang steht [148-150]. Deshalb wird Ccn2 bereits als fibrotischer Biomarker diskutiert [151, 152]. Studien mit Mäusen zeigten, dass Ccn2 an renale TEZ bindet und dadurch am Nierenschaden beteiligt ist [153]. Vor diesem Hintergrund würde das Expressionsmuster für Ccn2 in der vorliegenden Arbeit bedeuten, dass der Nierenschaden, hervorgerufen durch die Injektion des NTS, in BAFF-R-ko-Nieren im Vergleich zu den BAFF-ko- und Wildtyp-Nieren größer war.

Das Ergebnis der niedrigeren Expression-Level in BAFF-ko-Nieren, welches auf einen protektiven Effekt in Hinblick auf die renale Fibrose hinweist, deckt sich mit dem Stand der Literatur. Im Fall der IgA-Nephropathie verstärkt BAFF die Expression von Fibroblasten-Faktoren durch Aktivierung des TRAF6/NF- κ B-Signalweges im Modell der Ratte [59]. Ebenso ist bekannt, dass BAFF B-Zellen durch den NF- κ B-Signalweg in Patienten mit IgA-Nephropathie aktiviert [60] und B-Zellen-Aktivierung wie erhöhte BAFF-Level in diesen Patienten nachweisbar sind [61, 62]. In GN-Patienten sind die BAFF-Level höher und die Expression von Rezeptoren ist im tubulointerstitiellen Bereich erhöht [63]. BAFF übt einen proliferativen Effekt auf humane, mesangiale Zellen *in vitro* durch den BAFF-R aus. Aufgrund dessen könnte BAFF an der Pathogenese der Glomerulonephritis beteiligt sein [64]. Zusätzlich wurde die Anti-BAFF-Therapie mit Belimumab bereits für den Einsatz in der LN aufgrund der positiven Wirkung genehmigt [154].

Drei weitere Gene, Kap, Umod und Ren1, wurden in den Analysen detektiert. Das Expressionsmuster von *Kidney androgen regulated protein* (Kap) und Uromodulin (Umod) waren einander ähnlich. Höhere Expression wurde im Wildtyp-Stamm detektiert, wohingegen die Expressions-Level niedriger und ähnlich im BAFF ko und BAFF-R ko waren. Im Fall von Renin 1 (Ren1), waren die Expressions-Level ähnlich in BAFF-ko- und BAFF-R-ko-Nieren, aber höher im Vergleich zum Wildtyp. Kap wird im proximalen Abschnitt der TEZ exprimiert [155] und die Funktion ist aktuell noch unklar. Es scheint kritisch für die kardiovaskulär-renale Homöostase zu sein und eine Überexpression führt zu Bluthochdruck [156]. Studien zeigten Glomerulosklerose und Proteinurie in transgenen Mäusen [157]. Ebenso wird eine protektive Rolle diskutiert. Es wurde gezeigt, dass Cyclosporin A (CsA) die Runterregulation von Kap im S3-Segment der proximalen TEZ induziert, was zu Schaden und Toxizität führt [158].

Umod wird in den Nieren von Zellen des dicken Segments des aufsteigenden Astes der Henle-Schleife und den distalen Tubuli produziert. Es agiert eventuell als Inhibitor der Calcium-Kristallisation im renalen Fluid und seine Exkretion im Urin könnte eine Abwehr gegen Infektionen des urinalen Traktes vermitteln. Umod spielt eine Rolle in der glomerulären Filtration, Nierenentwicklung und organ- wie gewebespezifischen Immunantwort und ist mit der tubulointerstitiellen Nierenkrankheit, Nephritis und renaler tubulärer Atrophie assoziiert [159, 160]. Umod könnte als Rezeptor für die Bindung und Endozytose von Cytokinen und TNF fungieren.

Studien zeigten, dass *single nucleotide polymorphisms* (SNP) im Umod-Gen mit GFR und CKD assoziiert sind [161, 162]. Die Serum-Level von Umod sind in CKD-Patienten höher [163]. Nichtsdestotrotz werden auch protektive Effekte diskutiert. Umod-Knockout-Mäuse, die

einer I/R unterzogen wurden, zeigten mehr Inflammation, tubuläre Nekrose und eine stärkere Störung der Nierenfunktion [164]. Ohne die genaue Rolle von Kap und Umod in unserem Modell zu kennen, können keine Bedeutungen des Expressionsmusters abgeleitet werden. Ob die niedrigeren Expressions-Level im BAFF ko und BAFF-R ko gleichbedeutend mit einer Verbesserung (Kap und Umod negative Effekte) oder Verschlechterung (Kap und Umod positive Effekte) sind, ist unklar.

Renin wird von den Nieren sekretiert, spielt eine Rolle in der Regulation des Blutdrucks [165] und der Elektrolyt-Balance und ist mit renaler tubulären Dysgenese, tubulointerstitiellen Nierenerkrankung und CKD assoziiert [166]. Mutationen im REN-Gen führen zu einer Prädisposition zur Entwicklung einer AKI [167]. Unsere Ergebnisse unterstützen die Notwendigkeit von weiteren Untersuchungen auf Protein-Ebene in Hinblick auf den Gebrauch von Renin als prognostischen Biomarker.

6.3 Relevanz des BAFF/BAFF-R-Signalweges

Aufgrund der Ergebnisse, dass der BAFF- und BAFF-R-Knockout einen Einfluss in den beiden angewandten Nierenschädigungsmodellen zu haben scheinen und dabei unterschiedlich wirken, wurden im I/R- wie NTN-Modell ebenfalls das Cytokin BAFF selbst und seine drei Rezeptoren – BAFF-R, BCMA, TACI – näher betrachtet, um Hinweise auf den während einer akuten bzw. chronischen Nierenschädigung verwendeten Signalweg zu erhalten.

6.3.1 BAFF/BAFF-R-Signalweg im I/R-Modell

Für den Rezeptor BAFF-R (Tnfrsf13c) konnte in den Nieren der meisten Mäuse keine Expression detektiert werden und in den Nieren einer Maus nur sehr wenige Transkripte (2 TPM: *transcripts per million*). Ebenfalls wurde keine Expression von BCMA (Tnfrsf17) detektiert (nur in der Niere einer Maus 3 TPM). Nur TACI (Tnfrsf13b) war in den ischämischen Nieren exprimiert. Die Expression war dabei leicht niedriger in den BAFF-ko-Nieren im Vergleich zu den Wildtypen und im BAFF-R ko leicht höher im Vergleich zu den Wildtypen. Studien zeigen, dass TACI in Patienten mit chronischen antikörpervermittelten Abstoßungen überexprimiert ist [40]. Aufgrund dessen wird TACI als potenzieller Biomarker für die Unterscheidung dieser Patienten von stabilen diskutiert. Unsere Ergebnisse zeigen eine denkbare Beteiligung von

TAC1 während der akuten Phase nach einer I/R, indem BAFF primär über diesen Rezeptor Signale vermittelt und TAC1 somit potenziell eine Rolle in der akuten Nierenschädigung spielt.

BAFF (Tnfsf13b) selbst war in den ischämischen Nieren hochreguliert, dabei im BAFF-R ko im Vergleich zu den Wildtypen höher exprimiert. Es ist denkbar, dass die fehlende Signalvermittlung über den BAFF-R die BAFF-Expression in einer Art Feedback-Loop verstärkt. Allerdings ist nicht nur in den BAFF-R-ko-Nieren, sondern auch in BAFF-ko- wie Wildtyp-Nieren keine BAFF-R-Expression detektiert worden. Dies steht im Widerspruch zu der Annahme, dass die höhere BAFF-Expression im Knockout des BAFF-R begründet liegt. Somit erklärt sich dieses Ergebnis vermutlich durch die unterschiedlichen Stämme.

Auffällig war die grundsätzlich höhere Expression der untersuchten Gene im BAFF-R ko im Vergleich zum entsprechenden Wildtyp. Unter der Annahme, dass sich der Knockout des Cytokins BAFF positiv auswirkte und Signale bei Vorhandensein nicht über den BAFF-R vermittelt werden, müsste davon ausgegangen werden, dass die Schädigung im BAFF-R ko und entsprechenden Wildtyp dieselbe sein müssten. Eine mögliche Erklärung dafür, warum ischämische Nieren des Wildtyps weniger Schaden aufweisen als BAFF-R ko ischämische Nieren, könnte sein, dass die Signalvermittlung von BAFF über verschiedene Rezeptoren mit konträren Effekten läuft. Somit ist es denkbar, dass BAFF eine ambivalente Rolle in der akuten Nierenschädigung, hervorgerufen durch den I/R-Schaden, spielt.

6.3.2 BAFF/BAFF-R Signalweg im NTN-Modell

Die Expression des Cytokins BAFF war in den BAFF-R-ko- wie Wildtyp-Nieren gering und könnte einen Hinweis darauf liefern, dass in der chronischen Phase einer Nierenschädigung keine verstärkte BAFF-Expression mehr detektierbar ist und die Vermittlung entscheidender Signale zeitlich bereits vorher stattfindet. In der vorliegenden Arbeit gab es keine Hinweise darauf, dass BAFF-R (Tnfrsf13c) oder BCMA (Tnfrsf17) in den geschädigten Nieren exprimiert wurden. Die Expression des Rezeptors TAC1 (Tnfrsf13b) konnte anhand der Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden (siehe Anhang, 10.2, *Supplement Figure S1*).

In allen drei Mausstämmen wurde in den Nieren die Expression eines anderen Mitglieds der TNF-Superfamilie auf RNA-Ebene detektiert: TWEAK (Tnfsf12) sowie des TWEAK-Rezeptors (Tnfrsf12a). In Nieren des BAFF ko, BAFF-R ko und der Wildtypen war die Expression von TWEAK und des TWEAK-Rezeptors jeweils ähnlich. Dennoch war das Expressions-Level von TWEAK im Vergleich zum Rezeptor in allen drei Mausstämmen höher. Dieses Ergebnis

deckt sich damit, dass der TWEAK/TWEAK-Rezeptor-Signalweg eine Rolle in der Pathogenese der Nephritis spielt [168]. Der glomeruläre und tubuläre Schaden sowie die tubulointerstitielle Fibrose können durch Anti-TWEAK-Behandlung mit monoklonalen Antikörpern (mAb) verringert werden [168].

Darüber hinaus ist bekannt, dass der TWEAK/Fn14-Signalweg die mesangiale Zellproliferation, vaskuläre Zellaktivierung und den renalen Zelltod fördert [168]. Im NTN-Modell verbessert die Verabreichung von Anti-TWEAK-mAb in Wildtyp-Mäusen die Proteinurie wie Nierenhistologie und verringert die glomeruläre Ig-Deposition, Infiltration von Makrophagen und tubulointerstitielle Fibrose [168]. Fn14 ist in verletzten und krankhaften Geweben induziert und wird von mesangialen Zellen, Podozyten, endothelialen und tubulären Zellen exprimiert [169-172]. TWEAK kann den tubulären Zelltod fördern [173, 174] und die Proteinlevel sind in Lupus-Patienten mit aktiver Nephritis erhöht und können während nephritischen *Flares* steigen [175, 176]. TWEAK und Fn14 mRNA sind im glomerulären und tubulären Kompartiment in der humanen LN hochreguliert [177].

Autophagie kann in der renalen Fibrose unnützliche oder dysfunktionale Komponenten degradieren und somit vor Zell-Apoptose schützen. Dadurch ist es aber ebenfalls möglich, dass beschädigte TEZ die Apoptose umgehen und durch Autophagie überleben. In diesem Fall kommt es zur fehlerhaften Reparatur und zu Veränderungen des Phänotyps, sodass TEZ proinflammatorische sowie profibrotische Cytokine produzieren. Schlussendlich verschlimmert dies die renale Fibrose [178]. Des Weiteren ist die Seneszenz von TEZ in der CKD durch Bluthochdruck, Diabetes oder IgA-Nephropathie induziert [19]. Die Charakteristika von Seneszenz sind Zellzyklus-Arrest in der G2/M-Phase und die Sekretion von proinflammatorischen und profibrotischen Faktoren [19-21]. Dies verknüpft die tubuläre Zell-Seneszenz mit der renalen Fibrose. In Bezug auf die zuvor aufgeführten Gründe kann angenommen werden, dass neben dem Cytokin BAFF auch TWEAK und der TWEAK-Rezeptor Signale vermitteln, die mit der chronischen Phase der renalen Erkrankung verknüpft sind. Die chronologische Abfolge der Ereignisse muss jedoch noch weiter untersucht werden.

6.4 Limitationen der Untersuchungen

Im Rahmen der Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass in beiden Nierenschädigungs-Modellen verschiedene Gene differenziell exprimiert wurden und dabei ein distinktes Expressionsmuster in Bezug auf den BAFF- bzw. BAFF-R-Knockout aufwiesen. In fortführenden

Studien müssen diese ersten Ergebnisse vor dem Hintergrund der dieser Untersuchungen zugrunde liegenden Limitationen überprüft werden.

Die akute Phase der Nierenschädigung wurde durch einen ischämischen Reiz induziert und das I/R-Modell dabei unilateral durchgeführt. Ischämie und der sich anschließende Reperfusionsschaden wirkten sich im verwendeten Modell somit nicht systemisch aus. Die kontralaterale Niere konnte die Schädigung, zumindest teilweise, ausgleichen. Es ist zu erwarten, dass bei einer bilateral durchgeführten I/R die Schädigung stärker und somit die Ergebnisse noch eindeutiger ausgefallen wären. Jedoch ist nicht davon auszugehen, dass sich die Ergebnisse vollständig anders dargestellt hätten.

Aufgrund des 3R-Prinzips (3R: *Replace* [Vermeiden], *Reduce* [Verringern], *Refine* [Verbessern]) ist von einem bilateralen Eingriff abgesehen worden, da dadurch eine stärkere Belastung der Versuchstiere angenommen werden musste und diese durch den nur unilateral durchgeführten Eingriff reduziert werden konnte. Die Expressionsunterschiede der einzelnen, hier untersuchten Gene wären in den verschiedenen Stämmen und Genotypen bei bilateraler Durchführung des Modells vermutlich nur stärker ausgefallen. Durch die fehlende systemische Wirkung des unilateralen I/R-Modells ist ein direkter Vergleich zum NTN-Modell schwierig. Nicht nur, dass in diesem Modell mit der Injektion des Nephrotoxischen Serums (NTS) ein immunologischer Reiz untersucht wurde, hatte dieser zudem eine systemische Wirkung. Beide Nieren waren hier gleichermaßen betroffen. Ein direkter Vergleich beider Modelle muss somit immer vor dem Hintergrund der unterschiedlichen Wirkweise wie -breite betrachtet werden.

In Bezug auf autoimmunologisch bedingte Nierenschädigungen, wie bei der Manifestation einer LN im SLE, von dem ca. 90 % der Betroffenen Frauen sind [179, 180], ist eine schwerpunktmäßige Betrachtung der Nierenschädigung in weiblichen Versuchstieren sinnvoll. Dieser Fokus wurde auch in der vorliegenden Arbeit gesetzt und somit nur Weibchen untersucht. Im Vergleich der Genotypen und Stämme untereinander sowie mit den Wildtypen bestand daher in Bezug auf das Geschlecht eine homogene Gruppe. Die Ergebnisse müssen aber vor diesem Hintergrund betrachtet werden und können nicht für beide Geschlechter gleichgesetzt betrachtet und angenommen werden.

Darüber hinaus muss in Betracht gezogen werden, dass der weibliche Hormonzyklus die Ergebnisse beeinflusst haben könnte. Erste eigene Analysen zeigten hierzu allerdings keinen Einfluss von Genen des Hormonzyklus auf das nierenschädigende I/R-Modell [67]. Für das NTN-Modell wurde bereits gezeigt, dass das Geschlecht keinen Einfluss auf die Entwicklung der Glomerulonephritis und deren Ausmaß hat [82]. Um die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit aber verallgemeinert auf beide Geschlechter beziehen zu können, müssen erst in nachfolgenden

Analysen ebenfalls männliche Versuchstiere im I/R- wie NTN-Modell untersucht und den Ergebnissen aus der Untersuchung von weiblichen Mäusen gegenübergestellt werden.

Es wurde bereits auf Limitationen hinsichtlich des direkten Vergleichs beider Modelle hingewiesen. Dies begründet sich nicht nur in den zwei zugrunde liegenden, unterschiedlichen Schädigungsreizen. Im I/R-Modell wurden die beiden Knockouts jeweils mit ihren Wildtyp-Geschwistertieren verglichen und stammen somit aus einer Zucht und Haltung. Im NTN-Modell wurde neben den Knockouts aus eigener Zucht und Haltung der Wildtyp-Stamm C57BL/6J von *The Jackson Laboratory* (Maine, USA) bezogen. Bei Betrachtung der Ergebnisse muss somit von Stammesunterschieden ausgegangen werden.

Ferner unterschieden sich die Gruppenvergleiche in beiden Modellen. Beim I/R-Modell konnte durch den unilateralen Eingriff die ischämische Niere gegen die kontralaterale Kontroll-Niere verglichen werden. Darüber hinaus konnte der Knockout jeweils neben dem Geschwister-Wildtyp und schlussendlich den beiden Stämmen (BAFF und BAFF-R) betrachtet werden. Im NTN-Modell wurde als Vergleich und Kontrolle der ebenfalls behandelte Wildtyp-Stamm verwendet. So ließen sich die Auswirkungen der Glomerulonephritis auf Transkriptom-Ebene des Wildtyps mit denen in den beiden Knockouts vergleichen. Ebenfalls aufgrund des 3R-Prinzips wurde auf eine unbehandelte Kontrollgruppe aus Wildtypen und Knockouts des BAFF- und BAFF-R-Stammes verzichtet und somit die Anzahl benötigter Versuchstiere verringert.

Zwar wurde mit der Untersuchung der Nierenschädigung in zwei verschiedenen Modellen ermöglicht, die akute wie chronische Phase einer Nierenschädigung zu betrachten, allerdings sind keine zeitlichen Verläufe abbildbar. Es wurde in beiden Modellen jeweils nur ein Zeitpunkt in jeweils nur einer Phase untersucht. Im I/R-Modell drei Tage nach Reperfusion in der akuten Phase und im NTN-Modell 21 Tage nach Injektion in der chronischen Phase. Zeitliche Verläufe lassen sich somit nicht abbilden, auch keine Peaks von potenziellen Biomarkern. Es ist denkbar, dass die detektierten Signale z. B. einen Tag nach I/R noch deutlich stärker und an Tag 3 eventuell zuvor aktive Gene nicht mehr merklich differenziell exprimiert gewesen sein könnten.

Dabei muss beachtet werden, dass die Methode der Transkriptomanalyse selbst eine Limitation darstellt. Eine vollständige Abbildung ist nicht möglich, da es sich stets um Momentaufnahmen zu diesem einen Probenzeitpunkt handelt. Bereits der Tageszeitpunkt, zu dem die Probe entnommen wurde, wirkt sich maßgeblich darauf aus, was in der nachfolgenden Transkriptom-analyse abgebildet wird. Da im I/R-Modell nur die akute Phase untersucht worden ist, können die Ergebnisse nicht der chronischen Phase im selben Modell gegenübergestellt werden.

Gleiches gilt entgegengesetzt für das NTN-Modell. Hier wurde nur die chronische Phase untersucht und somit ist ein Vergleich der Ergebnisse zur akuten Phase im NTN-Modell nicht

möglich. Auch in diesem Modell lassen sich, wie bereits für das I/R-Modell diskutiert, keine zeitlichen Abfolgen untersuchen, da nur ein Zeitpunkt betrachtet wurde. Ohne zeitlichen Ablauf sind insbesondere Zusammenhänge einzelner Genregulationen und die Chronologie innerhalb der Signalwege nicht abbildbar und müssen in Folgeuntersuchungen analysiert werden. Die im NTN-Modell detektierten Gene müssten hinsichtlich ihrer Nutzung als prädiktive Biomarker noch in einer früheren Phase bzw. während des Turnovers von der AKI zur CKD untersucht werden, um auszuschließen, dass diese Gene erst in der chronischen Phase stärker exprimiert werden.

In der vorliegenden Arbeit lag der Fokus primär auf der Untersuchung des Cytokins BAFF und dessen Rezeptor BAFF-R im Modell einer akuten wie chronischen Nierenschädigung. Die Beteiligung des Cytokins an beiden Phasen einer Nierenschädigung konnte abgebildet werden. Durch die Verwendung zweier unterschiedlicher Modelle konnten darüber hinausgehend noch weitere Fragestellungen bearbeitet werden, was bei einem Vergleich zweier Phasen in einem Modell nicht möglich gewesen wäre. Unabhängig vom Schädigungsreiz, ischämisch oder immunologisch, spielt BAFF eine Rolle während der renalen Schädigung.

Die hier generierten Hypothesen müssen zukünftig in fortführenden Experimenten mit größerer Gruppengröße überprüft und reproduziert werden. Auch um auszuschließen, dass die Unterschiede nur auf die unterschiedlichen Mausstämme und deren Hintergründe zurückzuführen sind. Um die Eignung der hier detektierten Gene in Hinsicht auf prädiktive/prognostische Biomarker im Rahmen von Nierenschädigungen weiter zu untersuchen, müssen u. a. Nachweise auf Protein-Ebene erfolgen.

Da die Nieren im Gesamten untersucht wurden, könnten *in vitro* Experimente ausgewählter Zelltypen, wie der in der Literatur bereits diskutierten TEZ, genaueren Aufschluss über die Lokalisierung und zellulären Abläufe während einer Nierenschädigung liefern.

Ein großer Vorteil war es, die Untersuchungen zur renalen Nierenschädigung an Mausstämmen durchzuführen, die autoimmunologisch nicht vorbelastet sind. Auf diese Weise konnte u. a. die Auswirkung des Cytokins BAFF und des BAFF-R im Rahmen einer induzierten Glomerulonephritis abseits einer autoimmunologischen Dysregulation, wie sie bei einer LN vorliegt, betrachtet und diskutiert werden.

Auch wenn die hier abgebildeten Daten im Rahmen von tierexperimentellen Untersuchungen erhoben wurden und die Ergebnisse somit nicht direkt auf humane Nierenschädigungen übertragen werden können, liefern die Untersuchungsergebnisse jedoch vielversprechende Ansatzpunkte für die weitere Forschung. Insbesondere in Hinblick auf die Identifizierung von prädiktiven Biomarkern zur frühzeitigen Erkennung einer renalen Funktionsstörung und der sich

daraus ergebenden Möglichkeit, die beteiligten Netzwerke fortführend hinsichtlich der Ableitung therapeutischer Ansatzpunkte weiter zu untersuchen.

7 Schlussfolgerung

Die durchgeführten Untersuchungen weisen auf eine Beteiligung des Cytokins BAFF in der akuten Phase einer Nierenschädigung sowie bei chronischen Nierenschäden hin. In beiden verwendeten Nierenschädigungs-Modellen führte der Knockout von BAFF scheinbar zu einer Verringerung des Nierenschadens, woraus sich eine negative Rolle des Cytokins bei der Entstehung von sowie für manifeste Nierenerkrankungen ableiten lässt. Hinsichtlich des Signalweges scheint die Signalvermittlung über den BAFF-R weder im Modell der akuten noch der chronischen Nierenschädigung abzulaufen. Im I/R-Modell der akuten Nierenschädigung scheint TACI der hauptsächliche Rezeptor für die Signalvermittlung zu sein. Bei der chronischen Nierenschädigung im NTN-Modell scheint neben dem BAFF/BAFF-R-System ein anderes Mitglied der TNF-Superfamilie, TWEAK sowie der TWEAK-Rezeptor, eine Rolle zu spielen.

Die Hypothesen müssen in Folgeuntersuchungen mit größeren Gruppengrößen und auf Proteinebene bestätigt werden sowie die chronologische Abfolge der Ereignisse von der akuten Schädigung hin zur chronischen Nierenerkrankung untersucht werden. Diese Prozesse und beteiligten Netzwerke während der Transition von der AKI zur CKD zu entschlüsseln wird maßgeblich für die Identifizierung prognostischer Biomarker sein, die es ermöglichen könnten, bereits vor dem irreversiblen Turnover zur CKD eine zielgerichtete Therapie einzuleiten und weiteren Schaden zu vermeiden.

Die in dieser Arbeit detektierten, potenziellen protektiven Biomarker müssen hierfür fortführend untersucht werden. Insbesondere die auffällige Expression von Lysozym 2 in ischämischen Nieren beider Stämme sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein, vor allem in Hinblick auf den Nutzen von Lysozym 2 als potenzieller, prädiktiver Biomarker, um akute Nierenschädigungen frühzeitig erkennen zu können.

8 Zusammenfassung

Nachfolgend die Zusammenfassung der vorliegenden, kumulativen Dissertation in deutscher wie englischer Fassung.

8.1 Deutsche Fassung

Die akute Nierenschädigung (AKI) und chronische Nierenerkrankung (CKD) gehen weltweit mit einer hohen Morbidität wie Mortalität einher. Bei unvollständiger Wiederherstellung der renalen Funktion kann sich eine AKI zur CKD und schlussendlich zum terminalen Nierenversagen (ESRD) entwickeln, welches eine lebenslange Dialyse oder Nierentransplantation erforderlich macht. Zielgerichtete Therapien sind nicht verfügbar. Eingesetzte Therapeutika weisen starke Nebenwirkungen auf und sind oftmals nephrotoxisch. Daher besteht eine dringende Notwendigkeit, prädiktive Biomarker zur frühen Erkennung zu identifizieren.

Das Cytokin BAFF (B-Zellen-Aktivierungsfaktor) unterstützt B-Zellen, die eine wichtige Rolle für die Antikörper-Produktion, in inflammatorischen Prozessen und bei akuten Nierenschädigungen spielen. Zusätzlich aktiviert BAFF den CKD-assoziierten NF- κ B-Signalweg durch Bindung an den BAFF-R. Renale Tubulus-Epithelzellen (TEZ), die eine entscheidende Funktion in der renalen Fibrose-Entstehung innehaben, produzieren wiederum BAFF. Vor diesem Hintergrund ist eine direkte Beteiligung des BAFF/BAFF-R-Systems während der AKI und der Entstehung einer CKD denkbar.

Um den Einfluss von BAFF und des BAFF-R in beiden Phasen der renalen Krankheitsentstehung zu untersuchen, wurden zwei verschiedene Nierenschädigungs-Modelle jeweils in BAFF- (B6.129S2-*Tnfrsf13b*^{tm1Msc/J}) und BAFF-R-defizienten (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass/J}) Mäusen durchgeführt. Die akute Phase der AKI wurde im Modell der Ischämie/Reperfusion (I/R) untersucht, indem das Transkriptom der ischämischen und kontralateralen Kontrollniere im Vergleich zu Wildtyp-Geschwistertieren drei Tage nach der Reperfusion analysiert wurde. Um die chronische Phase der CKD zu untersuchen, wurde die Nephrotoxische Serum Nephritis (NTN) durchgeführt und das Transkriptom der Nieren 21 Tage nach der Injektion des Nephrotoxischen Serums (NTS) im Vergleich zu Nieren eines Wildtyp-Stammes (C57BL/6J) analysiert.

Im Rahmen der I/R waren die Gene *Lcn2*, *Lyz2*, *Cd44*, *Fn1* sowie *Il1rn* hochreguliert und das Gen *Kl* runterreguliert. Im NTN-Modell konnte die Hochregulation der Gene *Txnip*, *Gpx3*,

Igfbp7, Ccn2, Kap, Umod und Ren1 detektiert werden. In beiden Modellen wiesen diese Gene unterschiedliche Expressionsmuster im BAFF- und BAFF-R-Knockout auf.

Diese vorliegenden Ergebnisse führen zur Schlussfolgerung, dass das BAFF/BAFF-R-System in beiden Phasen einer Nierenschädigung beteiligt ist. In der akuten Phase scheinen Signale via TACI vermittelt zu werden, in der chronischen Phase zusätzlich über TWEAK und dessen Rezeptor. In beiden Modellen scheint der Knockout des Cytokins BAFF protektiv hinsichtlich der Nierenschädigung zu wirken. Fortführende Untersuchungen sind erforderlich, um die Eignung der detektierten Gene als prädiktive Biomarker für die AKI sowie deren potenziellen prognostischen Einsatz zur Erkennung des Übergangs zu einer CKD zu prüfen.

8.2 Englische Fassung

Acute kidney injury (AKI) as well as chronic kidney disease (CKD) come along with high morbidity and mortality worldwide. In case of incomplete renal recovery, AKI can lead to CKD and finally to end-stage renal disease (ESRD), which results in the requirement of lifelong dialysis or kidney transplantation. Targeted treatment is still unavailable. Used therapeutics have severe side effects and are often nephrotoxic. Consequently, identifying predictive biomarker for early recognition is an urgent need.

The cytokine BAFF (B cell activating factor belonging to the TNF family) supports B cells, which play an important role for antibody production, in inflammatory processes and acute kidney injuries. In addition, BAFF activates the CKD-associated NF- κ B signaling pathway via BAFF-R binding. Renal tubular epithelial cells (TECs), which are critical for fibrosis progression, in turn produce BAFF. Based on this background, direct involvement of the BAFF/BAFF-R system during AKI and the progression to CKD is conceivable.

In order to unravel the effect of the cytokine BAFF and the BAFF-R in both phases of renal disease progression, two different kidney destruction models were performed in each case in BAFF (B6.129S2-*Tnfsf13b*^{tm1Msc}/J) and BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass}/J) deficient mice. Acute phase of AKI was investigated in the ischemia/reperfusion (I/R) model by analyzing transcriptome of ischemic and contralateral control kidneys in comparison to wildtype littermates three days after reperfusion. For studying the chronic phase of CKD, nephrotoxic serum nephritis (NTN) was performed and transcriptome of the kidneys was analyzed 21 days after injection of nephrotoxic serum (NTS) in comparison to kidneys of a wildtype strain (C57BL/6J).

In the course of I/R the genes *Lcn2*, *Lyz2*, *Cd44*, *Fn1* and *Il1rn* were upregulated and the gene *K1* downregulated. In the NTN model the upregulation of the genes *Txnip*, *Gpx3*, *Igfbp7*, *Ccn2*, *Kap*, *Umod* and *Ren1* was detected. In both models, these genes showed different expression patterns for BAFF and BAFF-R ko.

These present results lead to the conclusion, that BAFF/BAFF-R system is involved in both phases of kidney injury. For acute phase it seems as if signaling is mediated via TACI, and in chronic phase additionally via TWEAK and its receptor. In both models, BAFF ko seems to have a protective effect with regard to kidney injury. Further studies are required in order to verify suitability of detected genes as predictive biomarkers for AKI as well as their potential prognostic use for recognizing transition to CKD.

9 Literaturverzeichnis

Nachfolgend das Literaturverzeichnis zur vorliegenden kumulativen Dissertation (9.1) sowie die Auflistung der Referenzen aus den beiden Publikationen im Zitationsstil des jeweiligen Journals (9.2 und 9.3).

9.1 Referenzen der vorliegenden Arbeit

1. Heberden W. Commentaries on the History and Cure of Diseases: T. Payne; 1802.
2. Group K. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int Suppl.* 2012;2:1.
3. Smith HW. The kidney: structure and function in health and disease: Oxford University Press; 1951.
4. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P and the Aw. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Critical Care.* 2004;8(4):R204.
5. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG *et al.* Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Critical Care.* 2007;11(2):R31.
6. Imig JD and Ryan MJ. Immune and inflammatory role in renal disease. *Compr Physiol.* 2013;3(2):957.
7. Espi M, Koppe L, Fouque D and Thaunat O. Chronic kidney disease-associated immune dysfunctions: impact of protein-bound uremic retention solutes on immune cells. *Toxins (Basel).* 2020; 12 (5): 300. This review explains the relationship between immune dysfunctions with the accumulation of microbiota-derived metabolites in the context of CKD.
8. Djurdjaj S and Boor P. Cellular and molecular mechanisms of kidney fibrosis. *Mol Aspects Med.* 2019;65:16-36.
9. Kovesdy CP. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney International Supplements.* 2022;12(1):7-11.
10. Tang PC-T, Zhang Y-Y, Chan MK-K, Lam WW-Y, Chung JY-F, Kang W *et al.* The emerging role of innate immunity in chronic kidney diseases. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):4018.
11. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int.* 2024;105(4s):S117-s314.
12. Webster AC, Nagler EV, Morton RL and Masson P. Chronic kidney disease. *The lancet.* 2017;389(10075):1238-52.
13. Chadban SJ and Atkins RC. Glomerulonephritis. *The Lancet.* 2005;365(9473):1797-806.
14. Anders H-J, Kitching AR, Leung N and Romagnani P. Glomerulonephritis: immunopathogenesis and immunotherapy. *Nature Reviews Immunology.* 2023:1-19.

15. Burlingame R, Boey M, Starkebaum G and Rubin R. The central role of chromatin in autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus. *The Journal of clinical investigation*. 1994;94(1):184-92.
16. Gewin LS. Renal fibrosis: primacy of the proximal tubule. *Matrix Biol*. 2018;68:248-62.
17. Bonventre JV. Primary proximal tubule injury leads to epithelial cell cycle arrest, fibrosis, vascular rarefaction, and glomerulosclerosis. *Kidney international supplements*. 2014;4(1):39-44.
18. Bonventre JV. Maladaptive proximal tubule repair: cell cycle arrest. *Nephron Clinical Practice*. 2014;127(1-4):61-4.
19. Ferenbach DA and Bonventre JV. Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. *Nature Reviews Nephrology*. 2015;11(5):264-76.
20. Andrade L, Rodrigues CE, Gomes SA and Noronha IL. Acute kidney injury as a condition of renal senescence. *Cell Transplant*. 2018;27(5):739-53.
21. Yang L, Humphreys BD and Bonventre JV. Pathophysiology of acute kidney injury to chronic kidney disease: maladaptive repair. *Controversies in acute kidney injury*. 2011;174:149-55.
22. Qi R and Yang C. Renal tubular epithelial cells: the neglected mediator of tubulointerstitial fibrosis after injury. *Cell Death Dis*. 2018;9(11):1126.
23. Takaori K, Nakamura J, Yamamoto S, Nakata H, Sato Y, Takase M *et al*. Severity and frequency of proximal tubule injury determines renal prognosis. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2016;27(8):2393.
24. Schwarting A, Relle M, Meineck M, Fohr B, Triantafyllias K, Weinmann A *et al*. Renal tubular epithelial cell-derived BAFF expression mediates kidney damage and correlates with activity of proliferative lupus nephritis in mouse and men. *Lupus*. 2018;27(2):243-56.
25. Schneider P, MacKay F, Steiner V, Hofmann K, Bodmer J-L, Holler N *et al*. BAFF, a Novel Ligand of the Tumor Necrosis Factor Family, Stimulates B Cell Growth. *The Journal of Experimental Medicine*. 1999;189(11):1747-56.
26. Moore PA, Belvedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P *et al*. BLyS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science*. 1999;285(5425):260-3.
27. Möckel T, Basta F, Weinmann-Menke J and Schwarting A. B cell activating factor (BAFF): Structure, functions, autoimmunity and clinical implications in Systemic Lupus Erythematosus (SLE). *Autoimmun Rev*. 2021;20(2):102736.
28. Vincent FB, Saulep-Easton D, Figgett WA, Fairfax KA and Mackay F. The BAFF/APRIL system: emerging functions beyond B cell biology and autoimmunity. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2013;24(3):203-15.
29. Cosman D. A family of ligands for the TNF receptor superfamily. *Stem Cells*. 1994;12(5):440-55.
30. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS *et al*. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood*. 2001;97(1):198-204.
31. Ng LG, Sutherland APR, Newton R, Qian F, Cachero TG, Scott ML *et al*. B Cell-Activating Factor Belonging to the TNF Family (BAFF)-R Is the Principal BAFF Receptor Facilitating BAFF Costimulation of Circulating T and B Cells. *The Journal of Immunology*. 2004;173(2):807-17.

32. Thompson JS, Bixler SA, Qian F, Vora K, Scott ML, Cachero TG *et al.* BAFF-R, a Newly Identified TNF Receptor That Specifically Interacts with BAFF. *Science*. 2001;293(5537):2108-11.
33. Yan M, Brady JR, Chan B, Lee WP, Hsu B, Harless S *et al.* Identification of a novel receptor for B lymphocyte stimulator that is mutated in a mouse strain with severe B cell deficiency. *Curr Biol*. 2001;11(19):1547-52.
34. Avery DT, Kalled SL, Ellyard JI, Ambrose C, Bixler SA, Thien M *et al.* BAFF selectively enhances the survival of plasmablasts generated from human memory B cells. *The Journal of clinical investigation*. 2003;112(2):286-97.
35. O'Connor BP, Raman VS, Erickson LD, Cook WJ, Weaver LK, Ahonen C *et al.* BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. *J Exp Med*. 2004;199(1):91-8.
36. Seshasayee D, Valdez P, Yan M, Dixit VM, Tumas D and Grewal IS. Loss of TACI causes fatal lymphoproliferation and autoimmunity, establishing TACI as an inhibitory BlyS receptor. *Immunity*. 2003;18(2):279-88.
37. Shulga-Morskaya S, Dobles M, Walsh ME, Ng LG, MacKay F, Rao SP *et al.* B cell-activating factor belonging to the TNF family acts through separate receptors to support B cell survival and T cell-independent antibody formation. *The Journal of Immunology*. 2004;173(4):2331-41.
38. von Bülow G-U, van Deursen JM and Bram RJ. Regulation of the T-independent humoral response by TACI. *Immunity*. 2001;14(5):573-82.
39. Yan M, Wang H, Chan B, Roose-Girma M, Erickson S, Baker T *et al.* Activation and accumulation of B cells in TACI-deficient mice. *Nat Immunol*. 2001;2(7):638.
40. Afzali S, Salehi S, Shahi A, Esmaceli M, Farashi Bonab S, Peykari A *et al.* Investigating the Role of BAFF and Its Receptors in Renal Transplant Recipients with Chronic Antibody-Mediated Rejection. *Journal of Immunology Research*. 2021;2021:6654992.
41. Banham G, Prezzi D, Harford S, Taylor CJ, Hamer R, Higgins R *et al.* Elevated pretransplantation soluble BAFF is associated with an increased risk of acute antibody-mediated rejection. *Transplantation*. 2013;96(4):413.
42. Thauinat O, Patey N, Gautreau C, Lechaton S, Fremeaux-Bacchi V, Dieu-Nosjean M-C *et al.* B cell survival in intragraft tertiary lymphoid organs after rituximab therapy. *Transplantation*. 2008;85(11):1648-53.
43. Thibault-Espitia A, Foucher Y, Danger R, Migone T, Pallier A, Castagnet S *et al.* BAFF and BAFF-R levels are associated with risk of long-term kidney graft dysfunction and development of donor-specific antibodies. *American Journal of Transplantation*. 2012;12(10):2754-62.
44. Xu H, He X, Sun J, Shi D, Zhu Y and Zhang X, editors. The expression of B-cell activating factor belonging to tumor necrosis factor superfamily (BAFF) significantly correlated with C4D in kidney allograft rejection. *Transplant Proc*; 2009: Elsevier.
45. Ye Q, Wang L, Wells AD, Tao R, Han R, Davidson A *et al.* BAFF binding to T cell-expressed BAFF-R costimulates T cell proliferation and alloresponses. *Eur J Immunol*. 2004;34(10):2750-9.
46. O'sullivan KM, Ford SL, Longano A, Kitching AR and Holdsworth SR. Intrarenal Toll-like receptor 4 and Toll-like receptor 2 expression correlates with injury in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2018;315(5):F1283-F94.

47. Chen J-Q, Szodoray P and Zeher M. Toll-like receptor pathways in autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2016;50:1-17.
48. Lin M, Yiu WH, Li RX, Wu HJ, Wong DW, Chan LY *et al.* The TLR4 antagonist CRX-526 protects against advanced diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2013;83(5):887-900.
49. Grech AP, Amesbury M, Chan T, Gardam S, Basten A and Brink R. TRAF2 differentially regulates the canonical and noncanonical pathways of NF- κ B activation in mature B cells. *Immunity.* 2004;21(5):629-42.
50. Li P-P, Liu D-D, Liu Y-J, Song S-S, Wang Q-T, Chang Y *et al.* BAFF/BAFF-R involved in antibodies production of rats with collagen-induced arthritis via PI3K-Akt-mTOR signaling and the regulation of paeoniflorin. *J Ethnopharmacol.* 2012;141(1):290-300.
51. Khan WN. B cell receptor and BAFF receptor signaling regulation of B cell homeostasis. *The Journal of Immunology.* 2009;183(6):3561-7.
52. Vincent FB, Morand EF and Mackay F. BAFF and innate immunity: new therapeutic targets for systemic lupus erythematosus. *Immunology and cell biology.* 2012;90(3):293-303.
53. Matsushita T and Sato S. The role of BAFF in autoimmune diseases. *Nihon Rinsho Men'Eki Gakkai Kaishi= Japanese Journal of Clinical Immunology.* 2005;28(5):333-42.
54. Itotagawa E, Tomofuji Y, Kato Y, Konaka H, Tsujimoto K, Park J *et al.* SLE stratification based on BAFF and IFN-I bioactivity for biologics and implications of BAFF produced by glomeruli in lupus nephritis. *Rheumatology.* 2023;62(5):1988-97.
55. Friebus-Kardash J, Branco L, Ribí C, Chizzolini C, Huynh-Do U, Dubler D *et al.* Immune complexes containing serum B-cell activating factor and immunoglobulin G correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2018;33(1):54-64.
56. Kang S, Fedoriw Y, Brenneman EK, Truong YK, Kikly K and Vilen BJ. BAFF induces tertiary lymphoid structures and positions T cells within the glomeruli during lupus nephritis. *The Journal of Immunology.* 2017;198(7):2602-11.
57. Nawata A, Nakayamada S, Hisano S, Miyazaki Y, Miyamoto T, Shiba E *et al.* Differential expression of IFN- α , IL-12 and BAFF on renal immune cells and its relevance to disease activity and treatment responsiveness in patients with proliferative lupus nephritis. *Lupus Science & Medicine.* 2023;10(2):e000962.
58. Suso J, Posso-Osorio I, Jiménez C, Naranjo-Escobar J, Ospina F, Sánchez A *et al.* Profile of BAFF and its receptors' expression in lupus nephritis is associated with pathological classes. *Lupus.* 2018;27(5):708-15.
59. Cao Y, Lu G, Chen X, Chen X, Guo N and Li W. BAFF is involved in the pathogenesis of IgA nephropathy by activating the TRAF6/NF- κ B signaling pathway in glomerular mesangial cells. *Mol Med Report.* 2020;21(2):795-805.
60. McCarthy DD, Kujawa J, Wilson C, Papandile A, Poreci U, Porfilio EA *et al.* Mice overexpressing BAFF develop a commensal flora-dependent, IgA-associated nephropathy. *The Journal of clinical investigation.* 2011;121(10):3991-4002.

61. Ye M, Peng Y, Liu C, Yan W, Peng X, He L *et al.* Vibration induces BAFF overexpression and aberrant O-Glycosylation of IgA1 in cultured human tonsillar mononuclear cells in IgA nephropathy. *BioMed Research International*. 2016;2016.
62. Zheng N, Fan J, Wang B, Wang D, Feng P, Yang Q *et al.* Expression profile of BAFF in peripheral blood from patients of IgA nephropathy: Correlation with clinical features and *Streptococcus pyogenes* infection. *Mol Med Report*. 2017;15(4):1925-35.
63. Neusser MA, Lindenmeyer MT, Edenhofer I, Gaiser S, Kretzler M, Regele H *et al.* Intrarenal production of B-cell survival factors in human lupus nephritis. *Mod Pathol*. 2011;24(1):98-107.
64. Zheng N, Wang D, Ming H, Zhang H and Yu X. BAFF promotes proliferation of human mesangial cells through interaction with BAFF-R. *BMC Nephrol*. 2015;16:1-10.
65. Hesketh EE, Czopek A, Clay M, Borthwick G, Ferenbach D, Kluth D *et al.* Renal ischaemia reperfusion injury: a mouse model of injury and regeneration. *J Vis Exp*. 2014(88).
66. Holderied A, Kraft F, Marschner JA, Weidenbusch M and Anders H-J. “Point of no return” in unilateral renal ischemia reperfusion injury in mice. *J Biomed Sci*. 2020;27(1):1-15.
67. Möckel T, Boegel S and Schwarting A. Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice. *PLoS One*. 2023;18(9):e0291619.
68. Thadhani R, Pascual M and Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med*. 1996;334(22):1448-60.
69. Weight S, Bell P and Nicholson M. Renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg*. 1996;83(2):162-70.
70. Rovcanin B, Medic B, Kocic G, Cebovic T, Ristic M and Prostran M. Molecular dissection of renal ischemia-reperfusion: oxidative stress and cellular events. *Curr Med Chem*. 2016;23(19):1965-80.
71. Molitoris B. The potential role of ischemia in renal disease progression. *Kidney Int Suppl*. 1992;36:S21-S5.
72. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Investig Med*. 1994;42(4):632-9.
73. Volti GL, Rodella L, Di Giacomo C, Rezzani R, Bianchi R, Borsani E *et al.* Role of carbon monoxide and biliverdin in renal ischemia/reperfusion injury. *Nephron Experimental nephrology*. 2006;104(4):e135-e9.
74. Supavekin S, Zhang W, Kucherlapati R, Kaskel FJ, Moore LC and Devarajan P. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. *Kidney Int*. 2003;63(5):1714-24.
75. Padanilam BJ. Cell death induced by acute renal injury: a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2003;284(4):F608-F27.
76. Venkatachalam MA, Bernard DB, Donohoe JF and Levinsky NG. Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: differences among the S1, S2, and S3 segments. *Kidney Int*. 1978;14(1):31-49.
77. Edelstein CL, Ling H and Schrier RW. The nature of renal cell injury. *Kidney Int*. 1997;51(5):1341-51.
78. DuBose TD, Warnock DG, Mehta RL, Bonventre JV, Hammerman MR, Molitoris BA *et al.* Acute renal failure in the 21st century: Recommendations for management and outcomes assessment. *Am J Kidney Dis*. 1997;29(5):793-9.
79. Burne-Taney MJ, Ascon DB, Daniels F, Racusen L, Baldwin W and Rabb H. B Cell Deficiency Confers Protection from Renal Ischemia Reperfusion Injury. *The Journal of Immunology*. 2003;171(6):3210.

80. Renner B, Strassheim D, Amura CR, Kulik L, Ljubanovic D, Glogowska MJ *et al.* B cell subsets contribute to renal injury and renal protection after ischemia/reperfusion. *The Journal of Immunology.* 2010;185(7):4393-400.
81. Jang HR, Gandolfo MT, Ko GJ, Satpute SR, Racusen L and Rabb H. B cells limit repair after ischemic acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(4):654-65.
82. Ougaard MKE, Kvist PH, Jensen HE, Hess C, Rune I and Søndergaard H. Murine nephrotoxic nephritis as a model of chronic kidney disease. *International journal of nephrology.* 2018;2018.
83. Zeisberg M, Soubasakos MA and Kalluri R. Animal models of renal fibrosis. *Fibrosis Research: Methods and Protocols.* 2005:261-72.
84. Eddy AA, López-Guisa JM, Okamura DM and Yamaguchi I. Investigating mechanisms of chronic kidney disease in mouse models. *Pediatr Nephrol.* 2012;27:1233-47.
85. Kaneko Y, Nimmerjahn F, Madaio MP and Ravetch JV. Pathology and protection in nephrotoxic nephritis is determined by selective engagement of specific Fc receptors. *The Journal of experimental medicine.* 2006;203(3):789-97.
86. Xie C, Sharma R, Wang H, Zhou XJ and Mohan C. Strain distribution pattern of susceptibility to immune-mediated nephritis. *The Journal of Immunology.* 2004;172(8):5047-55.
87. NAGAI H, YAMADA H, NISHIGAKI T, NAKAZAWA M and KODA A. The susceptibility of experimental glomerulonephritis in six different strains of mice. *J Pharmacobiodyn.* 1985;8(7):586-9.
88. Möckel T, Boegel S and Schwarting A. Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis. *Int J Mol Sci.* 2024;25(10).
89. Salant DJ and Cybulsky AV. [38] Experimental glomerulonephritis. *Methods Enzymol.* 162: Elsevier; 1988. p. 421-61.
90. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J *et al.* Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14(10):2534-43.
91. Devarajan P, Mishra J, Supavekin S, Patterson LT and Potter SS. Gene expression in early ischemic renal injury: clues towards pathogenesis, biomarker discovery, and novel therapeutics. *Molecular genetics and metabolism.* 2003;80(4):365-76.
92. Yang J, Goetz D, Li J-Y, Wang W, Mori K, Setlik D *et al.* An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol Cell.* 2002;10(5):1045-56.
93. Prockop DJ and Davidson WD. A study of urinary and serum lysozyme in patients with renal disease. *New England Journal of Medicine.* 1964;270(6):269-74.
94. Noble RE and Brainerd HD. Urine and serum lysozyme alterations in a case of acute renal failure. *J Urol.* 1966;96(6):852-3.
95. Cojocel C, Docu N and Baumann K. Early nephrotoxicity at high plasma concentrations of lysozyme in the rat. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology.* 1982;46(2):149-57.
96. Patel TV, Rennke HG, Sloan JM, DeAngelo DJ and Charytan DM. A forgotten cause of kidney injury in chronic myelomonocytic leukemia. *Am J Kidney Dis.* 2009;54(1):159-64.
97. Asano M, Hase H, Naruse Y, Kawada K, Kojima I, Branch J *et al.* A rare cause of acute kidney injury with chronic myelomonocytic leukemia. *CEN Case Reports.* 2021;10(3):320-5.

98. Hillen J, Raemaekers J, Steenbergen E, Wetzels J and Verhave J. Progressive kidney failure in chronic myelomonocytic leukaemia: don't forget lysozyme damage. *Netherlands J Med.* 2018;76(9):407-10.
99. Robinet-Zimmermann G, Rioux-Leclercq N, Frouget T and Le Naoures C. [Lysozyme-induced nephropathy: A rare cause of renal failure in chronic myelomonocytic leukemia]. *Ann Pathol.* 2020;40(6):478-82.
100. Makridakis M, Kontostathi G, Petra E, Stroggilos R, Lygirou V, Filip S *et al.* Multiplexed MRM-based protein quantification of putative prognostic biomarkers for chronic kidney disease progression in plasma. *Sci Rep.* 2020;10(1):4815.
101. Borland G, Ross JA and Guy K. Forms and functions of CD44. *Immunology.* 1998;93(2):139-48.
102. Neame SJ and Isacke CM. The cytoplasmic tail of CD44 is required for basolateral localization in epithelial MDCK cells but does not mediate association with the detergent-insoluble cytoskeleton of fibroblasts. *J Cell Biol.* 1993;121(6):1299-310.
103. Sheikh H and Isacke CM. A di-hydrophobic Leu-Val motif regulates the basolateral localization of CD44 in polarized Madin-Darby canine kidney epithelial cells. *J Biol Chem.* 1996;271(21):12185-90.
104. Benz PS, Fan X and Wüthrich RP. Enhanced tubular epithelial CD44 expression in MRL-lpr lupus nephritis. *Kidney Int.* 1996;50(1):156-63.
105. Florquin S and Rouschop KM. Reciprocal functions of hepatocyte growth factor and transforming growth factor-beta1 in the progression of renal diseases: a role for CD44? *Kidney Int Suppl.* 2003(86):S15-20.
106. Roy-Chaudhury P, Khong TF, Williams JH, Haites NE, Wu B, Simpson JG *et al.* CD44 in glomerulonephritis: expression in human renal biopsies, the Thy 1.1 model, and by cultured mesangial cells. *Kidney Int.* 1996;50(1):272-81.
107. Sibalic V, Fan X, Loffing J and Wüthrich RP. Upregulated renal tubular CD44, hyaluronan, and osteopontin in kdkd mice with interstitial nephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 1997;12(7):1344-53.
108. Lewington AJ, Padanilam BJ, Martin DR and Hammerman MR. Expression of CD44 in kidney after acute ischemic injury in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000;278(1):R247-54.
109. Rouschop KM, Roelofs JJ, Claessen N, da Costa Martins P, Zwaginga JJ, Pals ST *et al.* Protection against renal ischemia reperfusion injury by CD44 disruption. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(7):2034-43.
110. Wang Y and Ni H. Fibronectin maintains the balance between hemostasis and thrombosis. *Cellular and molecular life sciences.* 2016;73(17):3265-77.
111. Zhang Y-L, Li P-B, Han X, Zhang B and Li H-H. Blockage of Fibronectin 1 Ameliorates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Association with Activation of AMP-LKB1-AMPK Signaling Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2022;2022.
112. Allan SM, Tyrrell PJ and Rothwell NJ. Interleukin-1 and neuronal injury. *Nature Reviews Immunology.* 2005;5(8):629-40.
113. Dripps DJ, Brandhuber BJ, Thompson RC and Eisenberg SP. Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80-kDa IL-1 receptor but does not initiate IL-1 signal transduction. *J Biol Chem.* 1991;266(16):10331-6.
114. Rusai K, Huang H, Sayed N, Strobl M, Roos M, Schmaderer C *et al.* Administration of interleukin-1 receptor antagonist ameliorates renal ischemia-reperfusion injury. *Transplant International.* 2008;21(6):572-80.

115. Olauson H, Mencke R, Hillebrands J-L and Larsson TE. Tissue expression and source of circulating α Klotho. *Bone*. 2017;100:19-35.
116. Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP *et al*. Regulation of Fibroblast Growth Factor-23 Signaling by Klotho. *J Biol Chem*. 2006;281(10):6120-3.
117. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K *et al*. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*. 2006;444(7120):770-4.
118. Asai O, Nakatani K, Tanaka T, Sakan H, Imura A, Yoshimoto S *et al*. Decreased renal α -Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion. *Kidney Int*. 2012;81(6):539-47.
119. Hu M-C, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Kuro-o M and Moe OW. Klotho deficiency is an early biomarker of renal ischemia–reperfusion injury and its replacement is protective. *Kidney Int*. 2010;78(12):1240-51.
120. Qian Y, Guo X, Che L, Guan X, Wu B, Lu R *et al*. Klotho reduces necroptosis by targeting oxidative stress involved in renal ischemic-reperfusion injury. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018;45(6):2268-82.
121. Ohnishi M and Razzaque MS. Dietary and genetic evidence for phosphate toxicity accelerating mammalian aging. *The FASEB Journal*. 2010;24(9):3562-71.
122. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R and Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int*. 2002;62(1):237-44.
123. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL *et al*. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem*. 1998;273(7):4135-42.
124. van Timmeren MM, van den Heuvel MC, Bailly V, Bakker SJ, van Goor H and Stegeman CA. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *The Journal of pathology*. 2007;212(2):209-17.
125. Arthur JM, Hill EG, Alge JL, Lewis EC, Neely BA, Janech MG *et al*. Evaluation of 32 urine biomarkers to predict the progression of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int*. 2014;85(2):431-8.
126. Han WK, Wagener G, Zhu Y, Wang S and Lee HT. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(5):873-82.
127. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H *et al*. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(3):904-12.
128. Sabbiseti VS, Waikar SS, Antoine DJ, Smiles A, Wang C, Ravisankar A *et al*. Blood kidney injury molecule-1 is a biomarker of acute and chronic kidney injury and predicts progression to ESRD in type I diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(10):2177-86.
129. Shao X, Tian L, Xu W, Zhang Z, Wang C, Qi C *et al*. Diagnostic value of urinary kidney injury molecule 1 for acute kidney injury: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(1):e84131.
130. Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA and Bonventre JV. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2006;290(2):F517-F29.

131. Yang L, Brooks CR, Xiao S, Sabbisetti V, Yeung MY, Hsiao L-L *et al.* KIM-1–mediated phagocytosis reduces acute injury to the kidney. *The Journal of clinical investigation.* 2015;125(4):1620-36.
132. Humphreys BD, Xu F, Sabbisetti V, Grgic I, Naini SM, Wang N *et al.* Chronic epithelial kidney injury molecule-1 expression causes murine kidney fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation.* 2013;123(9):4023-35.
133. Chen J, Tang T-T, Cao J-Y, Li Z-L, Zhong X, Wen Y *et al.* KIM-1 augments hypoxia-induced tubulointerstitial inflammation through uptake of small extracellular vesicles by tubular epithelial cells. *Mol Ther.* 2022.
134. François A, Chatelus E, Wachsmann D, Sibilia J, Bahram S, Alsaleh G *et al.* B lymphocytes and B-cell activating factor promote collagen and profibrotic markers expression by dermal fibroblasts in systemic sclerosis. *Arthritis research & therapy.* 2013;15:1-9.
135. Matsushita T, Fujimoto M, Hasegawa M, Matsushita Y, Komura K, Ogawa F *et al.* BAFF antagonist attenuates the development of skin fibrosis in tight-skin mice. *J Invest Dermatol.* 2007;127(12):2772-80.
136. Thapa M, Tedesco D, Gumber S, Elrod EJ, Han J-H, Kitchens WH *et al.* Blockade of BAFF reshapes the hepatic B cell receptor repertoire and attenuates autoantibody production in cholestatic liver disease. *The Journal of Immunology.* 2020;204(12):3117-28.
137. Mo F, Luo Y, Yan Y, Li J, Lai S and Wu W. Are activated B cells involved in the process of myocardial fibrosis after acute myocardial infarction? An in vivo experiment. *BMC Cardiovasc Disord.* 2021;21:1-14.
138. Wu M, Li R, Hou Y, Song S, Han W, Chen N *et al.* Thioredoxin-interacting protein deficiency ameliorates kidney inflammation and fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction. *Lab Invest.* 2018;98(9):1211-24.
139. Park S-J, Kim Y, Li C, Suh J, Sivapackiam J, Goncalves TM *et al.* Blocking CHOP-dependent TXNIP shuttling to mitochondria attenuates albuminuria and mitigates kidney injury in nephrotic syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2022;119(35):e2116505119.
140. He Q, Li Y, Zhang W, Chen J, Deng W, Liu Q *et al.* Role and mechanism of TXNIP in ageing-related renal fibrosis. *Mech Ageing Dev.* 2021;196:111475.
141. Avissar N, Ornt DB, Yagil Y, Horowitz S, Watkins RH, Kerl EA *et al.* Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *American Journal of Physiology-Cell Physiology.* 1994;266(2):C367-C75.
142. Whitin JC, Bhamre S, Tham DM and Cohen HJ. Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology.* 2002;283(1):F20-F8.
143. Olson GE, Whitin JC, Hill KE, Winfrey VP, Motley AK, Austin LM *et al.* Extracellular glutathione peroxidase (Gpx3) binds specifically to basement membranes of mouse renal cortex tubule cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology.* 2010;298(5):F1244-F53.
144. Yamamoto Y, Takekoshi Y, Itami N, Honjo T, Kojima H, Yano S *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for extracellular glutathione peroxidase in serum of normal individuals and patients with renal failure on hemodialysis. *Clin Chim Acta.* 1995;236(1):93-9.

145. Pei J, Tian X, Yu C, Luo J, Zhang J, Hua Y *et al.* GPX3 and GSTT1 as biomarkers related to oxidative stress during renal ischemia reperfusion injuries and their relationship with immune infiltration. *Front Immunol.* 2023;14:1136146.
146. Kashani K, Al-Khafaji A, Ardiles T, Artigas A, Bagshaw SM, Bell M *et al.* Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. *Critical care.* 2013;17:1-12.
147. Vijayan A, Faubel S, Askenazi DJ, Cerda J, Fissell WH, Heung M *et al.* Clinical use of the urine biomarker [TIMP-2]×[IGFBP7] for acute kidney injury risk assessment. *Am J Kidney Dis.* 2016;68(1):19-28.
148. Feng D, Ngov C, Henley N, Boufaied N and Gerarduzzi C. Characterization of matricellular protein expression signatures in mechanistically diverse mouse models of kidney injury. *Sci Rep.* 2019;9(1):16736.
149. Rayego-Mateos S, Morgado-Pascual JL, Rodrigues-Diez RR, Rodrigues-Diez R, Falke LL, Mezzano S *et al.* Connective tissue growth factor induces renal fibrosis via epidermal growth factor receptor activation. *The Journal of pathology.* 2018;244(2):227-41.
150. Rayego-Mateos S, Campillo S, Rodrigues-Diez RR, Tejera-Muñoz A, Marquez-Exposito L, Goldschmeding R *et al.* Interplay between extracellular matrix components and cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis. *Clin Sci.* 2021;135(16):1999-2029.
151. Phanish MK, Winn S and Dockrell M. Connective tissue growth factor-(CTGF, CCN2)—a marker, mediator and therapeutic target for renal fibrosis. *Nephron experimental nephrology.* 2010;114(3):e83-e92.
152. Sánchez-López E, Rodríguez Díez R, Rodríguez Vita J, Rayego Mateos S, Rodríguez Díez R, Rodríguez García E *et al.* Connective tissue growth factor (CTGF): a key factor in the onset and progression of kidney damage. *Nefrología (English Edition).* 2009;29(5):382-91.
153. Rayego-Mateos S, Morgado-Pascual JL, Lavozy C, Rodrigues-Diez RR, Márquez-Expósito L, Tejera-Muñoz A *et al.* CCN2 Binds to Tubular Epithelial Cells in the Kidney. *Biomolecules.* 2022;12(2):252.
154. Furie R, Rovin BH, Houssiau F, Malvar A, Teng YKO, Contreras G *et al.* Two-Year, Randomized, Controlled Trial of Belimumab in Lupus Nephritis. *N Engl J Med.* 2020;383(12):1117-28.
155. Meseguer A and Catterall JF. Mouse kidney androgen-regulated protein messenger ribonucleic acid is expressed in the proximal convoluted tubules. *Mol Endocrinol.* 1987;1(8):535-41.
156. Tornavaca O, Pascual G, Barreiro M, Grande M, Carretero A, Riera M *et al.* Kidney androgen-regulated protein transgenic mice show hypertension and renal alterations mediated by oxidative stress. *Circulation.* 2009;119(14):1908-17.
157. de Quixano BB, Villena JA, Aranda M, Brils G, Cuevas A, Hespel T *et al.* Kidney androgen-regulated protein (KAP) transgenic mice are protected against high-fat diet induced metabolic syndrome. *Sci Rep.* 2017;7(1):16102.
158. Tornavaca O, Sarro E, Pascual G, Bardaji B, Montero MA, Salcedo MT *et al.* KAP degradation by calpain is associated with CK2 phosphorylation and provides a novel mechanism for cyclosporine A-induced proximal tubule injury. *PLoS One.* 2011;6(9):e25746.
159. Melchinger H, Calderon-Gutierrez F, Obeid W, Xu L, Shaw MM, Luciano RL *et al.* Urine uromodulin as a biomarker of kidney tubulointerstitial fibrosis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2022;17(9):1284-92.

160. Rampoldi L, Scolari F, Amoroso A, Ghiggeri G and Devuyst O. The rediscovery of uromodulin (Tamm–Horsfall protein): from tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2011;80(4):338-47.
161. Köttgen A, Glazer NL, Dehghan A, Hwang S-J, Katz R, Li M *et al.* Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nat Genet.* 2009;41(6):712-7.
162. Köttgen A, Pattaro C, Böger CA, Fuchsberger C, Olden M, Glazer NL *et al.* New loci associated with kidney function and chronic kidney disease. *Nat Genet.* 2010;42(5):376-84.
163. Jennings P, Aydin S, Kotanko P, Lechner J, Lhotta K, Williams S *et al.* Membrane targeting and secretion of mutant uromodulin in familial juvenile hyperuricemic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(1):264-73.
164. El-Achkar TM, Wu X-R, Rauchman M, McCracken R, Kiefer S and Dagher PC. Tamm-Horsfall protein protects the kidney from ischemic injury by decreasing inflammation and altering TLR4 expression. *American Journal of Physiology-Renal Physiology.* 2008;295(2):F534-F44.
165. Pugliese NR, Masi S and Taddei S. The renin-angiotensin-aldosterone system: a crossroad from arterial hypertension to heart failure. *Heart Fail Rev.* 2020;25:31-42.
166. Sparks MA, Crowley SD, Gurley SB, Mirosou M and Coffman TM. Classical renin-angiotensin system in kidney physiology. *Compr Physiol.* 2014;4(3):1201.
167. Živná M, Hůlková H, Matignon M, Hodaňová K, Vylet'al P, Kalbáčová M *et al.* Dominant renin gene mutations associated with early-onset hyperuricemia, anemia, and chronic kidney failure. *The American Journal of Human Genetics.* 2009;85(2):204-13.
168. Xia Y, Campbell SR, Broder A, Herlitz L, Abadi M, Wu P *et al.* Inhibition of the TWEAK/Fn14 pathway attenuates renal disease in nephrotoxic serum nephritis. *Clin Immunol.* 2012;145(2):108-21.
169. Campbell S, Burkly LC, Gao H-X, Berman JW, Su L, Browning B *et al.* Proinflammatory effects of TWEAK/Fn14 interactions in glomerular mesangial cells. *The Journal of Immunology.* 2006;176(3):1889-98.
170. Gao H-X, Campbell SR, Burkly LC, Jakubowski A, Jarchum I, Banas B *et al.* TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) induces inflammatory and proliferative effects in human kidney cells. *Cytokine.* 2009;46(1):24-35.
171. Lynch CN, Wang YC, Lund JK, Chen Y-W, Leal JA and Wiley SR. TWEAK induces angiogenesis and proliferation of endothelial cells. *J Biol Chem.* 1999;274(13):8455-9.
172. Justo P, Sanz A, Sanchez-Nino M, Winkles J, Lorz C, Egido J *et al.* Cytokine cooperation in renal tubular cell injury: the role of TWEAK. *Kidney Int.* 2006;70(10):1750-8.
173. Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Izquierdo MC, Jakubowski A, Justo P, Blanco-Colio LM *et al.* Tweak induces proliferation in renal tubular epithelium: a role in uninephrectomy induced renal hyperplasia. *Journal of cellular and molecular medicine.* 2009;13(9b):3329-42.
174. Sanz AB, Sanchez-Niño MD and Ortiz A. TWEAK, a multifunctional cytokine in kidney injury. *Kidney Int.* 2011;80(7):708-18.
175. Schwartz N, Su L, Burkly LC, Mackay M, Aranow C, Kollaros M *et al.* Urinary TWEAK and the activity of lupus nephritis. *J Autoimmun.* 2006;27(4):242-50.

176. Schwartz N, Rubinstein T, Burkly LC, Collins CE, Blanco I, Su L *et al.* Urinary TWEAK as a biomarker of lupus nephritis: a multicenter cohort study. *Arthritis research & therapy.* 2009;11:1-10.
177. Lu J, KWAN BCH, LAI FMM, CHOI PCL, TAM LS, LI EKM *et al.* Gene expression of TWEAK/Fn14 and IP-10/CXCR3 in glomerulus and tubulointerstitium of patients with lupus nephritis. *Nephrology.* 2011;16(4):426-32.
178. Baisantray A, Bhayana S, Rong S, Ermeling E, Wrede C, Hegermann J *et al.* Autophagy induces pro-senescent changes in proximal tubular S3 segments. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN.* 2016;27(6):1609.
179. Beeson PB. Age and sex associations of 40 autoimmune diseases. *The American Journal of Medicine.* 1994;96(5):457-62.
180. Danchenko N, Satia JA and Anthony MS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus.* 2006;15(5):308-18.

9.2 Referenzen der Publikation *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice*

1. Schneider P, MacKay F, Steiner V, Hofmann K, Bodmer J-L, Holler N *et al.* BAFF, a Novel Ligand of the Tumor Necrosis Factor Family, Stimulates B Cell Growth. *The Journal of Experimental Medicine.* 1999;189(11):1747-56.
2. Moore PA, Belvedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P *et al.* BLyS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science.* 1999;285(5425):260-3.
3. Möckel T, Basta F, Weinmann-Menke J and Schwarting A. B cell activating factor (BAFF): Structure, functions, autoimmunity and clinical implications in Systemic Lupus Erythematosus (SLE). *Autoimmun Rev.* 2021;20(2):102736.
4. Vincent FB, Saulep-Easton D, Figgett WA, Fairfax KA and Mackay F. The BAFF/APRIL system: emerging functions beyond B cell biology and autoimmunity. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013;24(3):203-15.
5. Cosman D. A family of ligands for the TNF receptor superfamily. *STEM CELLS.* 1994;12(5):440-55.
6. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS *et al.* Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood.* 2001;97(1):198-204.
7. Ng LG, Sutherland APR, Newton R, Qian F, Cachero TG, Scott ML *et al.* B Cell-Activating Factor Belonging to the TNF Family (BAFF)-R Is the Principal BAFF Receptor Facilitating BAFF Costimulation of Circulating T and B Cells. *The Journal of Immunology.* 2004;173(2):807-17.
8. Thompson JS, Bixler SA, Qian F, Vora K, Scott ML, Cachero TG *et al.* BAFF-R, a Newly Identified TNF Receptor That Specifically Interacts with BAFF. *Science.* 2001;293(5537):2108-11.
9. Yan M, Brady JR, Chan B, Lee WP, Hsu B, Harless S *et al.* Identification of a novel receptor for B lymphocyte stimulator that is mutated in a mouse strain with severe B cell deficiency. *Current Biology.* 2001;11(19):1547-52.

10. Avery DT, Kalled SL, Ellyard JI, Ambrose C, Bixler SA, Thien M *et al.* BAFF selectively enhances the survival of plasmablasts generated from human memory B cells. *The Journal of clinical investigation.* 2003;112(2):286-97.
11. O'Connor BP, Raman VS, Erickson LD, Cook WJ, Weaver LK, Ahonen C *et al.* BCMA is essential for the survival of long-lived bone marrow plasma cells. *Journal of Experimental Medicine.* 2004;199(1):91-8.
12. Seshasayee D, Valdez P, Yan M, Dixit VM, Tumas D and Grewal IS. Loss of TACI causes fatal lymphoproliferation and autoimmunity, establishing TACI as an inhibitory BLYS receptor. *Immunity.* 2003;18(2):279-88.
13. Shulga-Morskaya S, Dobles M, Walsh ME, Ng LG, MacKay F, Rao SP *et al.* B cell-activating factor belonging to the TNF family acts through separate receptors to support B cell survival and T cell-independent antibody formation. *The Journal of Immunology.* 2004;173(4):2331-41.
14. von Bülow G-U, van Deursen JM and Bram RJ. Regulation of the T-independent humoral response by TACI. *Immunity.* 2001;14(5):573-82.
15. Yan M, Wang H, Chan B, Roose-Girma M, Erickson S, Baker T *et al.* Activation and accumulation of B cells in TACI-deficient mice. *Nature immunology.* 2001;2(7):638.
16. Vigolo M, Chambers MG, Willen L, Chevalley D, Maskos K, Lammens A *et al.* A loop region of BAFF controls B cell survival and regulates recognition by different inhibitors. *Nature communications.* 2018;9(1):1-15.
17. Afzali S, Salehi S, Shahi A, Esmaeili M, Farashi Bonab S, Peykari A *et al.* Investigating the Role of BAFF and Its Receptors in Renal Transplant Recipients with Chronic Antibody-Mediated Rejection. *Journal of Immunology Research.* 2021;2021:6654992.
18. Banham G, Prezzi D, Harford S, Taylor CJ, Hamer R, Higgins R *et al.* Elevated pretransplantation soluble BAFF is associated with an increased risk of acute antibody-mediated rejection. *Transplantation.* 2013;96(4):413.
19. Thauinat O, Patey N, Gautreau C, Lechaton S, Fremeaux-Bacchi V, Dieu-Nosjean M-C *et al.* B cell survival in intragraft tertiary lymphoid organs after rituximab therapy. *Transplantation.* 2008;85(11):1648-53.
20. Thibault-Espitia A, Foucher Y, Danger R, Migone T, Pallier A, Castagnet S *et al.* BAFF and BAFF-R levels are associated with risk of long-term kidney graft dysfunction and development of donor-specific antibodies. *American Journal of Transplantation.* 2012;12(10):2754-62.
21. Xu H, He X, Sun J, Shi D, Zhu Y and Zhang X, editors. The expression of B-cell activating factor belonging to tumor necrosis factor superfamily (BAFF) significantly correlated with C4D in kidney allograft rejection. *Transplantation proceedings;* 2009: Elsevier.
22. Ye Q, Wang L, Wells AD, Tao R, Han R, Davidson A *et al.* BAFF binding to T cell-expressed BAFF-R costimulates T cell proliferation and alloresponses. *European journal of immunology.* 2004;34(10):2750-9.
23. Rovcanin B, Medic B, Kocic G, Cebovic T, Ristic M and Prostran M. Molecular dissection of renal ischemia-reperfusion: oxidative stress and cellular events. *Current medicinal chemistry.* 2016;23(19):1965-80.

24. Molitoris B. The potential role of ischemia in renal disease progression. *Kidney international Supplement*. 1992;36:S21-S5.
25. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Investig Med*. 1994;42(4):632-9.
26. Volti GL, Rodella L, Di Giacomo C, Rezzani R, Bianchi R, Borsani E *et al*. Role of carbon monoxide and biliverdin in renal ischemia/reperfusion injury. *Nephron Experimental nephrology*. 2006;104(4):e135-e9.
27. Thadhani R, Pascual M and Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med*. 1996;334(22):1448-60.
28. Weight S, Bell P and Nicholson M. Renal ischaemia-reperfusion injury. *British Journal of Surgery*. 1996;83(2):162-70.
29. Padanilam BJ. Cell death induced by acute renal injury: a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2003;284(4):F608-F27.
30. Venkatachalam MA, Bernard DB, Donohoe JF and Levinsky NG. Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: differences among the S1, S2, and S3 segments. *Kidney Int*. 1978;14(1):31-49.
31. Supavekin S, Zhang W, Kucherlapati R, Kaskel FJ, Moore LC and Devarajan P. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. *Kidney international*. 2003;63(5):1714-24.
32. Edelstein CL, Ling H and Schrier RW. The nature of renal cell injury. *Kidney international*. 1997;51(5):1341-51.
33. DuBose TD, Warnock DG, Mehta RL, Bonventre JV, Hammerman MR, Molitoris BA *et al*. Acute renal failure in the 21st century: Recommendations for management and outcomes assessment. *American Journal of Kidney Diseases*. 1997;29(5):793-9.
34. Koning OH, Ploeg RJ, van Bockel JH, Groenewegen M, van der Woude FJ, Persijn GG *et al*. Risk factors for delayed graft function in cadaveric kidney transplantation: a prospective study of renal function and graft survival after preservation with University of Wisconsin solution in multi-organ donors. *European Multicenter Study Group. Transplantation*. 1997;63(11):1620-8.
35. Lu CY, Penfield JG, Kielar ML, Vazquez MA and Jeyarajah DR. Hypothesis: is renal allograft rejection initiated by the response to injury sustained during the transplant process? *Kidney Int*. 1999;55(6):2157-68.
36. Ojo AO, Wolfe RA, Held PJ, Port FK and Schumouder RL. DELAYED GRAFT FUNCTION: RISK FACTORS AND IMPLICATIONS FOR RENAL ALLOGRAFT SURVIVAL1. *Transplantation*. 1997;63(7).
37. Burne-Taney MJ, Ascon DB, Daniels F, Racusen L, Baldwin W and Rabb H. B Cell Deficiency Confers Protection from Renal Ischemia Reperfusion Injury. *The Journal of Immunology*. 2003;171(6):3210.
38. Renner B, Strassheim D, Amura CR, Kulik L, Ljubanovic D, Glogowska MJ *et al*. B cell subsets contribute to renal injury and renal protection after ischemia/reperfusion. *The Journal of Immunology*. 2010;185(7):4393-400.
39. Jang HR, Gandolfo MT, Ko GJ, Satpute SR, Racusen L and Rabb H. B cells limit repair after ischemic acute kidney injury. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2010;21(4):654-65.
40. Holderied A, Kraft F, Marschner JA, Weidenbusch M and Anders H-J. "Point of no return" in unilateral renal ischemia reperfusion injury in mice. *Journal of biomedical science*. 2020;27(1):1-15.

41. Steines L, Poth H, Schuster A, Geissler EK, Amann K, Banas B *et al.* Anti-BAFF treatment interferes with humoral responses in a model of renal transplantation in rats. *Transplantation*. 2020;104(1):e16-e22.
42. Assadiasl S, Shahi A, Salehi S, Afzali S and Amirzargar A. Interferon regulatory factors: Where to stand in transplantation. *Transplant Immunology*. 2018;51:76-80.
43. Karahan GE, Claas FH and Heidt S. B cell immunity in solid organ transplantation. *Frontiers in immunology*. 2017;7:686.
44. Xu H, He X and Xu R. B cell activating factor, renal allograft antibody-mediated rejection, and long-term outcome. *Journal of Immunology Research*. 2018;2018.
45. Gondos A, Döhler B, Brenner H and Opelz G. Kidney graft survival in Europe and the United States: strikingly different long-term outcomes. *Transplantation*. 2013;95(2):267-74.
46. Sellarés J, De Freitas D, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B *et al.* Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *American Journal of Transplantation*. 2012;12(2):388-99.
47. Hoffman W, Lakkis FG and Chalasani G. B cells, antibodies, and more. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 2016;11(1):137-54.
48. Xu H, He X, Liu Q, Shi D, Chen Y, Zhu Y *et al.*, editors. Abnormal high expression of B-cell activating factor belonging to the TNF superfamily (BAFF) associated with long-term outcome in kidney transplant recipients. *Transplantation proceedings*; 2009: Elsevier.
49. Burness CB and McCormack PL. Belimumab: in systemic lupus erythematosus. *Drugs*. 2011;71(18):2435-44.
50. Levy RA, Gonzalez-Rivera T, Khamashta M, Fox NL, Jones-Leone A, Rubin B *et al.* 10 Years of belimumab experience: What have we learnt? *Lupus*. 2021;30(11):1705-21.
51. Liu T, Neuner R, Thompson A, Pottackal G, Petullo D, Liu J *et al.* Clinical pharmacology considerations for the approval of belimumab for the treatment of adult patients with active lupus nephritis: A regulatory perspective. *Lupus*. 2022;31(4):424-32.
52. Gorelik L, Gilbride K, Dobles M, Kalled SL, Zandman D and Scott ML. Normal B cell homeostasis requires B cell activation factor production by radiation-resistant cells. *The Journal of experimental medicine*. 2003;198(6):937-45.
53. Schiemann B, Gommerman JL, Vora K, Cachero TG, Shulga-Morskaya S, Dobles M *et al.* An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA-independent pathway. *Science*. 2001;293(5537):2111-4.
54. Sasaki Y, Casola S, Kutok JL, Rajewsky K and Schmidt-Supprian M. TNF family member B cell-activating factor (BAFF) receptor-dependent and-independent roles for BAFF in B cell physiology. *The Journal of Immunology*. 2004;173(4):2245-52.
55. Guedel AE. Inhalation Anesthesia: A Fundamental Guide. *Anesthesia & Analgesia*. 1937;16(2):119-20.
56. Bray NL, Pimentel H, Melsted P and Pachter L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature Biotechnology*. 2016;34(5):525-7.
57. Love MI, Huber W and Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*. 2014;15(12):550.

58. Benjamini Y and Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*. 1995;57(1):289-300.
59. Blighe KR, Sharmila; Lewis, Myles. EnhancedVolcano: Publication-ready volcano plots with enhanced colouring and labeling. 2022 [Available from: <https://github.com/kevinblighe/EnhancedVolcano>].
60. Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*: Springer International Publishing; 2016.
61. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R and Bonventre JV. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney international*. 2002;62(1):237-44.
62. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL *et al*. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(7):4135-42.
63. van Timmeren MM, van den Heuvel MC, Bailly V, Bakker SJ, van Goor H and Stegeman CA. Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *The Journal of pathology*. 2007;212(2):209-17.
64. Arthur JM, Hill EG, Alge JL, Lewis EC, Neely BA, Janech MG *et al*. Evaluation of 32 urine biomarkers to predict the progression of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney International*. 2014;85(2):431-8.
65. Han WK, Wagener G, Zhu Y, Wang S and Lee HT. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*. 2009;4(5):873-82.
66. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H *et al*. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(3):904-12.
67. Sabbiseti VS, Waikar SS, Antoine DJ, Smiles A, Wang C, Ravisankar A *et al*. Blood kidney injury molecule-1 is a biomarker of acute and chronic kidney injury and predicts progression to ESRD in type I diabetes. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2014;25(10):2177-86.
68. Shao X, Tian L, Xu W, Zhang Z, Wang C, Qi C *et al*. Diagnostic value of urinary kidney injury molecule 1 for acute kidney injury: a meta-analysis. *PloS one*. 2014;9(1):e84131.
69. Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA and Bonventre JV. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2006;290(2):F517-F29.
70. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J *et al*. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2003;14(10):2534-43.
71. Devarajan P, Mishra J, Supavekin S, Patterson LT and Potter SS. Gene expression in early ischemic renal injury: clues towards pathogenesis, biomarker discovery, and novel therapeutics. *Molecular genetics and metabolism*. 2003;80(4):365-76.
72. Yang J, Goetz D, Li J-Y, Wang W, Mori K, Setlik D *et al*. An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Molecular cell*. 2002;10(5):1045-56.

73. Prockop DJ and Davidson WD. A study of urinary and serum lysozyme in patients with renal disease. *New England Journal of Medicine*. 1964;270(6):269-74.
74. Noble RE and Brainerd HD. Urine and serum lysozyme alterations in a case of acute renal failure. *J Urol*. 1966;96(6):852-3.
75. Coratelli P, Giannattasio M, Schena A, Marzolla R and Buongiorno E. Comparison of urinary enzyme pattern in renal transplant recipients receiving two different immunosuppressive regimens: azathioprine versus ciclosporin. *Contrib Nephrol*. 1988;68:203-6.
76. Ellis L, McSwiney RR and Tucker SM. Urinary excretion of lysozyme and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in the diagnosis of renal allograft rejection. *Ann Clin Biochem*. 1978;15(5):253-60.
77. Horpacsy G, Zinsmeyer J and Mebel M. Continuous determination of various enzymes and sodium concentration in urine. a usable method for diagnosis of kidney graft rejection. *Eur Urol*. 1978;4(5):334-7.
78. Klockars M, Reitamo S and Collan Y. Immunohistochemical identification of renal lysozyme during allograft rejection in man. *Histopathology*. 1979;3(5):433-43.
79. Matturri L, Ghidoni P, Palazzi P and Stasi P. Renal allograft rejection: immunohistochemistry of inflammatory cellular subsets and vascular lesions. *Basic Appl Histochem*. 1986;30(2):267-77.
80. Niwa T, Ito T, Matsui E and Ota H. Serum and urinary lysozyme activities in patients with renal diseases. *Tohoku J Exp Med*. 1974;114(1):27-33.
81. Roberts JL and Lewis EJ. Serum and urine beta-2-microglobulin and lysozyme concentrations in transplant rejection. *Proc Clin Dial Transplant Forum*. 1979;9:145-9.
82. Schmidt P, Kopsa H, Balcke P, Zazgornik J, Pils P and Hysek H. [Behaviour of serum and urinary lysozyme after renal transplantation (author's transl)]. *Wien Klin Wochenschr*. 1977;89(7):238-42.
83. Shehadeh IH, Carpenter CB, Monterio CH and Merrill JP. Renal allograft rejection. An analysis of lysozymuria, serum complement, lymphocyturia, and heterophil antibodies. *Arch Intern Med*. 1970;125(5):850-7.
84. Cojocel C, Dociu N and Baumann K. Early nephrotoxicity at high plasma concentrations of lysozyme in the rat. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology*. 1982;46(2):149-57.
85. Patel TV, Rennke HG, Sloan JM, DeAngelo DJ and Charytan DM. A forgotten cause of kidney injury in chronic myelomonocytic leukemia. *American journal of kidney diseases*. 2009;54(1):159-64.
86. Asano M, Hase H, Naruse Y, Kawada K, Kojima I, Branch J *et al*. A rare cause of acute kidney injury with chronic myelomonocytic leukemia. *CEN Case Reports*. 2021;10(3):320-5.
87. Hillen J, Raemaekers J, Steenbergen E, Wetzels J and Verhave J. Progressive kidney failure in chronic myelomonocytic leukaemia: don't forget lysozyme damage. *Netherlands J Med*. 2018;76(9):407-10.
88. Robinet-Zimmermann G, Rioux-Leclercq N, Frouget T and Le Naoures C. [Lysozyme-induced nephropathy: A rare cause of renal failure in chronic myelomonocytic leukemia]. *Ann Pathol*. 2020;40(6):478-82.
89. Makridakis M, Kontostathi G, Petra E, Stroggilos R, Lygirou V, Filip S *et al*. Multiplexed MRM-based protein quantification of putative prognostic biomarkers for chronic kidney disease progression in plasma. *Scientific Reports*. 2020;10(1):4815.
90. Borland G, Ross JA and Guy K. Forms and functions of CD44. *Immunology*. 1998;93(2):139-48.

91. Neame SJ and Isacke CM. The cytoplasmic tail of CD44 is required for basolateral localization in epithelial MDCK cells but does not mediate association with the detergent-insoluble cytoskeleton of fibroblasts. *J Cell Biol.* 1993;121(6):1299-310.
92. Sheikh H and Isacke CM. A di-hydrophobic Leu-Val motif regulates the basolateral localization of CD44 in polarized Madin-Darby canine kidney epithelial cells. *J Biol Chem.* 1996;271(21):12185-90.
93. Benz PS, Fan X and Wüthrich RP. Enhanced tubular epithelial CD44 expression in MRL-lpr lupus nephritis. *Kidney International.* 1996;50(1):156-63.
94. Florquin S and Rouschop KM. Reciprocal functions of hepatocyte growth factor and transforming growth factor-beta1 in the progression of renal diseases: a role for CD44? *Kidney Int Suppl.* 2003(86):S15-20.
95. Roy-Chaudhury P, Khong TF, Williams JH, Haites NE, Wu B, Simpson JG *et al.* CD44 in glomerulonephritis: expression in human renal biopsies, the Thy 1.1 model, and by cultured mesangial cells. *Kidney Int.* 1996;50(1):272-81.
96. Sibalic V, Fan X, Loffing J and Wüthrich RP. Upregulated renal tubular CD44, hyaluronan, and osteopontin in kdkd mice with interstitial nephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 1997;12(7):1344-53.
97. Lewington AJ, Padanilam BJ, Martin DR and Hammerman MR. Expression of CD44 in kidney after acute ischemic injury in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000;278(1):R247-54.
98. Rouschop KM, Roelofs JJ, Claessen N, da Costa Martins P, Zwaginga JJ, Pals ST *et al.* Protection against renal ischemia reperfusion injury by CD44 disruption. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(7):2034-43.
99. Wang Y and Ni H. Fibronectin maintains the balance between hemostasis and thrombosis. *Cellular and molecular life sciences.* 2016;73(17):3265-77.
100. Zhang Y-L, Li P-B, Han X, Zhang B and Li H-H. Blockage of Fibronectin 1 Ameliorates Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Association with Activation of AMP-LKB1-AMPK Signaling Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2022;2022.
101. Allan SM, Tyrrell PJ and Rothwell NJ. Interleukin-1 and neuronal injury. *Nature Reviews Immunology.* 2005;5(8):629-40.
102. Dripps DJ, Brandhuber BJ, Thompson RC and Eisenberg SP. Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist binds to the 80-kDa IL-1 receptor but does not initiate IL-1 signal transduction. *J Biol Chem.* 1991;266(16):10331-6.
103. Rusai K, Huang H, Sayed N, Strobl M, Roos M, Schmaderer C *et al.* Administration of interleukin-1 receptor antagonist ameliorates renal ischemia-reperfusion injury. *Transplant International.* 2008;21(6):572-80.
104. Olauson H, Mencke R, Hillebrands J-L and Larsson TE. Tissue expression and source of circulating α Klotho. *Bone.* 2017;100:19-35.
105. Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP *et al.* Regulation of Fibroblast Growth Factor-23 Signaling by Klotho. *Journal of Biological Chemistry.* 2006;281(10):6120-3.
106. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K *et al.* Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature.* 2006;444(7120):770-4.
107. Asai O, Nakatani K, Tanaka T, Sakan H, Imura A, Yoshimoto S *et al.* Decreased renal α -Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion. *Kidney International.* 2012;81(6):539-47.

108. Hu M-C, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Kuro-o M and Moe OW. Klotho deficiency is an early biomarker of renal ischemia–reperfusion injury and its replacement is protective. *Kidney international*. 2010;78(12):1240-51.
109. Ohnishi M and Razzaque MS. Dietary and genetic evidence for phosphate toxicity accelerating mammalian aging. *The FASEB Journal*. 2010;24(9):3562-71.
110. Qian Y, Guo X, Che L, Guan X, Wu B, Lu R *et al*. Klotho reduces necroptosis by targeting oxidative stress involved in renal ischemic-reperfusion injury. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018;45(6):2268-82.
111. Yang L, Brooks CR, Xiao S, Sabbisetti V, Yeung MY, Hsiao L-L *et al*. KIM-1–mediated phagocytosis reduces acute injury to the kidney. *The Journal of clinical investigation*. 2015;125(4):1620-36.
112. Humphreys BD, Xu F, Sabbisetti V, Grgic I, Naini SM, Wang N *et al*. Chronic epithelial kidney injury molecule-1 expression causes murine kidney fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2013;123(9):4023-35.
113. Chen J, Tang T-T, Cao J-Y, Li Z-L, Zhong X, Wen Y *et al*. KIM-1 augments hypoxia-induced tubulointerstitial inflammation through uptake of small extracellular vesicles by tubular epithelial cells. *Molecular Therapy*. 2022.

9.3 Referenzen der Publikation *Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis*

1. Imig, J.D.; Ryan, M.J. Immune and inflammatory role in renal disease. *Compr. Physiol*. 2013, 3, 957.
2. Espi, M.; Koppe, L.; Fouque, D.; Thaunat, O. Chronic kidney disease-associated immune dysfunctions: Impact of protein-bound uremic retention solutes on immune cells. *Toxins* 2020, 12, 300. This review explains the relationship between immune dysfunctions with the accumulation of microbiota-derived metabolites in the context of CKD.
3. Djurdjaj, S.; Boor, P. Cellular and molecular mechanisms of kidney fibrosis. *Mol. Asp. Med*. 2019, 65, 16–36.
4. Kovesdy, C.P. Epidemiology of chronic kidney disease: An update 2022. *Kidney Int. Suppl*. 2022, 12, 7–11.
5. Tang, P.C.-T.; Zhang, Y.-Y.; Chan, M.K.-K.; Lam, W.W.-Y.; Chung, J.Y.-F.; Kang, W.; To, K.-F.; Lan, H.-Y.; Tang, P.M.-K. The emerging role of innate immunity in chronic kidney diseases. *Int. J. Mol. Sci*. 2020, 21, 4018.
6. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2024 Clinical Practice Guide-line for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2024, 105, S117–S314. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2023.10.018>.
7. Webster, A.C.; Nagler, E.V.; Morton, R.L.; Masson, P. Chronic kidney disease. *Lancet* 2017, 389, 1238–1252.
8. Chadban, S.J.; Atkins, R.C. Glomerulonephritis. *Lancet* 2005, 365, 1797–1806.

9. Anders, H.-J.; Kitching, A.R.; Leung, N.; Romagnani, P. Glomerulonephritis: Immunopathogenesis and immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2023, 23, 453–471.
10. Bikbov, B.; Purcell, C.A.; Levey, A.S.; Smith, M.; Abdoli, A.; Abebe, M.; Adebayo, O.M.; Afarideh, M.; Agarwal, S.K.; Agude-lo-Botero, M. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* 2020, 395, 709–733.
11. Guo, Q.; Wu, S.; Xu, C.; Wang, J.; Chen, J. Global disease burden from acute glomerulonephritis 1990–2019. *Kidney Int. Rep.* 2021, 6, 2212–2217.
12. Burlingame, R.; Boey, M.; Starkebaum, G.; Rubin, R. The central role of chromatin in autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Investig.* 1994, 94, 184–192.
13. Gewin, L.S. Renal fibrosis: Primacy of the proximal tubule. *Matrix Biol.* 2018, 68, 248–262.
14. Bonventre, J.V. Primary proximal tubule injury leads to epithelial cell cycle arrest, fibrosis, vascular rarefaction, and glomerulosclerosis. *Kidney Int. Suppl.* 2014, 4, 39–44.
15. Bonventre, J.V. Maladaptive proximal tubule repair: Cell cycle arrest. *Nephron Clin. Pract.* 2014, 127, 61–64.
16. Ferenbach, D.A.; Bonventre, J.V. Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. *Nat. Rev. Nephrol.* 2015, 11, 264–276.
17. Andrade, L.; Rodrigues, C.E.; Gomes, S.A.; Noronha, I.L. Acute kidney injury as a condition of renal senescence. *Cell Transplant.* 2018, 27, 739–753.
18. Yang, L.; Humphreys, B.D.; Bonventre, J.V. Pathophysiology of acute kidney injury to chronic kidney disease: Maladaptive repair. *Controv. Acute Kidney Inj.* 2011, 174, 149–155.
19. Qi, R.; Yang, C. Renal tubular epithelial cells: The neglected mediator of tubulointerstitial fibrosis after injury. *Cell Death Dis.* 2018, 9, 1126.
20. Takaori, K.; Nakamura, J.; Yamamoto, S.; Nakata, H.; Sato, Y.; Takase, M.; Nameta, M.; Yamamoto, T.; Economides, A.N.; Kohno, K. Severity and frequency of proximal tubule injury determines renal prognosis. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 2016, 27, 2393.
21. O'sullivan, K.M.; Ford, S.L.; Longano, A.; Kitching, A.R.; Holdsworth, S.R. Intrarenal Toll-like receptor 4 and Toll-like receptor 2 expression correlates with injury in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* 2018, 315, F1283–F1294.
22. Lin, M.; Yiu, W.H.; Li, R.X.; Wu, H.J.; Wong, D.W.; Chan, L.Y.; Leung, J.C.; Lai, K.N.; Tang, S.C. The TLR4 antagonist CRX-526 protects against advanced diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2013, 83, 887–900.
23. Chen, J.-Q.; Szodoray, P.; Zeher, M. Toll-like receptor pathways in autoimmune diseases. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2016, 50, 1–17.
24. Zettel, K.; Korff, S.; Zamora, R.; Morelli, A.E.; Darwiche, S.; Loughran, P.A.; Elson, G.; Shang, L.; Salgado-Pires, S.; Scott, M.J. Toll-like receptor 4 on both myeloid cells and dendritic cells is required for systemic inflammation and organ damage after hemorrhagic shock with tissue trauma in mice. *Front. Immunol.* 2017, 8, 1672.
25. Hou, B.; Reizis, B.; DeFranco, A.L. Toll-like receptors activate innate and adaptive immunity by using dendritic cell-intrinsic and-extrinsic mechanisms. *Immunity* 2008, 29, 272–282.

26. Lan, H.Y.; Chung, A.C.-K. TGF- β /Smad signaling in kidney disease. *Semin. Nephrol.* 2012, 32, 236–243.
27. Grech, A.P.; Amesbury, M.; Chan, T.; Gardam, S.; Basten, A.; Brink, R. TRAF2 differentially regulates the canonical and non-canonical pathways of NF- κ B activation in mature B cells. *Immunity* 2004, 21, 629–642.
28. Li, P.-P.; Liu, D.-D.; Liu, Y.-J.; Song, S.-S.; Wang, Q.-T.; Chang, Y.; Wu, Y.-J.; Chen, J.-Y.; Zhao, W.-D.; Zhang, L.-L. BAFF/BAFF-R involved in antibodies production of rats with collagen-induced arthritis via PI3K-Akt-mTOR signaling and the regulation of paeoniflorin. *J. Ethnopharmacol.* 2012, 141, 290–300.
29. Khan, W.N. B cell receptor and BAFF receptor signaling regulation of B cell homeostasis. *J. Immunol.* 2009, 183, 3561–3567.
30. Moore, P.A.; Belvedere, O.; Orr, A.; Pieri, K.; LaFleur, D.W.; Feng, P.; Soppet, D.; Charters, M.; Gentz, R.; Parmelee, D.; et al. BLyS: Member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science* 1999, 285, 260–263. <https://doi.org/10.1126/science.285.5425.260>.
31. Schneider, P.; MacKay, F.; Steiner, V.; Hofmann, K.; Bodmer, J.-L.; Holler, N.; Ambrose, C.; Lawton, P.; Bixler, S.; Acha-Orbea, H.; et al. BAFF, a Novel Ligand of the Tumor Necrosis Factor Family, Stimulates B Cell Growth. *J. Exp. Med.* 1999, 189, 1747–1756. <https://doi.org/10.1084/jem.189.11.1747>.
32. Vincent, F.B.; Morand, E.F.; Mackay, F. BAFF and innate immunity: New therapeutic targets for systemic lupus erythematosus. *Immunol. Cell Biol.* 2012, 90, 293–303.
33. Matsushita, T.; Sato, S. The role of BAFF in autoimmune diseases. *Jpn. J. Clin. Immunol.* 2005, 28, 333–342.
34. Itotagawa, E.; Tomofuji, Y.; Kato, Y.; Konaka, H.; Tsujimoto, K.; Park, J.; Nagira, D.; Hirayama, T.; Jo, T.; Hirano, T. SLE stratification based on BAFF and IFN-I bioactivity for biologics and implications of BAFF produced by glomeruli in lupus nephritis. *Rheumatology* 2023, 62, 1988–1997.
35. Friebus-Kardash, J.; Branco, L.; Ribi, C.; Chizzolini, C.; Huynh-Do, U.; Dubler, D.; Roux-Lombard, P.; Dolf, S.; Kribben, A.; Eisenberger, U. Immune complexes containing serum B-cell activating factor and immunoglobulin G correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2018, 33, 54–64.
36. Kang, S.; Fedoriw, Y.; Brenneman, E.K.; Truong, Y.K.; Kikly, K.; Vilen, B.J. BAFF induces tertiary lymphoid structures and positions T cells within the glomeruli during lupus nephritis. *J. Immunol.* 2017, 198, 2602–2611.
37. Nawata, A.; Nakayamada, S.; Hisano, S.; Miyazaki, Y.; Miyamoto, T.; Shiba, E.; Hisaoka, M.; Tanaka, Y. Differential expression of IFN- α , IL-12 and BAFF on renal immune cells and its relevance to disease activity and treatment responsiveness in patients with proliferative lupus nephritis. *Lupus Sci. Med.* 2023, 10, e000962.
38. Suso, J.; Posso-Osorio, I.; Jiménez, C.; Naranjo-Escobar, J.; Ospina, F.; Sánchez, A.; Cañas, C.; Tobón, G. Profile of BAFF and its receptors' expression in lupus nephritis is associated with pathological classes. *Lupus* 2018, 27, 708–715.

39. Cao, Y.; Lu, G.; Chen, X.; Chen, X.; Guo, N.; Li, W. BAFF is involved in the pathogenesis of IgA nephropathy by activating the TRAF6/NF- κ B signaling pathway in glomerular mesangial cells. *Mol. Med. Rep.* 2020, 21, 795–805.
40. McCarthy, D.D.; Kujawa, J.; Wilson, C.; Papandile, A.; Poreci, U.; Porfilio, E.A.; Ward, L.; Lawson, M.A.; Macpherson, A.J.; McCoy, K.D. Mice overexpressing BAFF develop a commensal flora-dependent, IgA-associated nephropathy. *J. Clin. Investig.* 2011, 121, 3991–4002.
41. Ye, M.; Peng, Y.; Liu, C.; Yan, W.; Peng, X.; He, L.; Liu, H.; Liu, F. Vibration induces BAFF overexpression and aberrant O-Glycosylation of IgA1 in cultured human tonsillar mononuclear cells in IgA nephropathy. *BioMed Res. Int.* 2016, 2016, 9125960.
42. Zheng, N.; Fan, J.; Wang, B.; Wang, D.; Feng, P.; Yang, Q.; Yu, X. Expression profile of BAFF in peripheral blood from patients of IgA nephropathy: Correlation with clinical features and Streptococcus pyogenes infection. *Mol. Med. Rep.* 2017, 15, 1925–1935.
43. Zheng, N.; Wang, D.; Ming, H.; Zhang, H.; Yu, X. BAFF promotes proliferation of human mesangial cells through interaction with BAFF-R. *BMC Nephrol.* 2015, 16, 72.
44. Neusser, M.A.; Lindenmeyer, M.T.; Edenhofer, I.; Gaiser, S.; Kretzler, M.; Regele, H.; Segerer, S.; Cohen, C.D. Intrarenal production of B-cell survival factors in human lupus nephritis. *Mod. Pathol.* 2011, 24, 98–107.
45. Schwarting, A.; Relle, M.; Meineck, M.; Fohr, B.; Triantafyllias, K.; Weinmann, A.; Roth, W.; Weinmann-Menke, J. Renal tubular epithelial cell-derived BAFF expression mediates kidney damage and correlates with activity of proliferative lupus nephritis in mouse and men. *Lupus* 2018, 27, 243–256. <https://doi.org/10.1177/0961203317717083>.
46. Huang, W.; Quach, T.D.; Dascalu, C.; Liu, Z.; Leung, T.; Byrne-Steele, M.; Pan, W.; Yang, Q.; Han, J.; Lesser, M. Belimumab promotes negative selection of activated autoreactive B cells in systemic lupus erythematosus patients. *JCI Insight* 2018, 3, e122525.
47. Stohl, W.; Kwok, A. Belimumab for the treatment of pediatric patients with lupus nephritis. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2023, 23, 243–251.
48. Zhang, F.; Bae, S.-C.; Bass, D.; Chu, M.; Egginton, S.; Gordon, D.; Roth, D.A.; Zheng, J.; Tanaka, Y. A pivotal phase III, randomised, placebo-controlled study of belimumab in patients with systemic lupus erythematosus located in China, Japan and South Korea. *Ann. Rheum. Dis.* 2018, 77, 355–363.
49. Eddy, A.A.; López-Guisa, J.M.; Okamura, D.M.; Yamaguchi, I. Investigating mechanisms of chronic kidney disease in mouse models. *Pediatr. Nephrol.* 2012, 27, 1233–1247.
50. Kaneko, Y.; Nimmerjahn, F.; Madaio, M.P.; Ravetch, J.V. Pathology and protection in nephrotoxic nephritis is determined by selective engagement of specific Fc receptors. *J. Exp. Med.* 2006, 203, 789–797.
51. Xie, C.; Sharma, R.; Wang, H.; Zhou, X.J.; Mohan, C. Strain distribution pattern of susceptibility to immune-mediated nephritis. *J. Immunol.* 2004, 172, 5047–5055.
52. NAGAI, H.; YAMADA, H.; NISHIGAKI, T.; NAKAZAWA, M.; KODA, A. The susceptibility of experimental glomerulonephritis in six different strains of mice. *J. Pharmacobiodyn.* 1985, 8, 586–589.
53. Ougaard, M.K.E.; Kvist, P.H.; Jensen, H.E.; Hess, C.; Rune, I.; Søndergaard, H. Murine nephrotoxic nephritis as a model of chronic kidney disease. *Int. J. Nephrol.* 2018, 2018, 8424502.

54. Möckel, T.; Boegel, S.; Schwarting, A. Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice. *PLoS ONE* 2023, 18, e0291619.
55. Matsushita, T.; Fujimoto, M.; Hasegawa, M.; Matsushita, Y.; Komura, K.; Ogawa, F.; Watanabe, R.; Takehara, K.; Sato, S. BAFF antagonist attenuates the development of skin fibrosis in tight-skin mice. *J. Investig. Dermatol.* 2007, 127, 2772–2780.
56. François, A.; Chatelus, E.; Wachsmann, D.; Sibilía, J.; Bahram, S.; Alsaleh, G.; Gottenberg, J.-E. B lymphocytes and B-cell activating factor promote collagen and profibrotic markers expression by dermal fibroblasts in systemic sclerosis. *Arthritis Res. Ther.* 2013, 15, R168.
57. Thapa, M.; Tedesco, D.; Gumber, S.; Elrod, E.J.; Han, J.-H.; Kitchens, W.H.; Magliocca, J.F.; Adams, A.B.; Grakoui, A. Blockade of BAFF reshapes the hepatic B cell receptor repertoire and attenuates auto-antibody production in cholestatic liver disease. *J. Immunol.* 2020, 204, 3117–3128.
58. Mo, F.; Luo, Y.; Yan, Y.; Li, J.; Lai, S.; Wu, W. Are activated B cells involved in the process of myocardial fibrosis after acute myocardial infarction? An in vivo experiment. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2021, 21, 5.
59. Wu, M.; Li, R.; Hou, Y.; Song, S.; Han, W.; Chen, N.; Du, Y.; Ren, Y.; Shi, Y. Thioredoxin-interacting protein deficiency ameliorates kidney inflammation and fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction. *Lab. Investig.* 2018, 98, 1211–1224.
60. Park, S.-J.; Kim, Y.; Li, C.; Suh, J.; Sivapackiam, J.; Goncalves, T.M.; Jarad, G.; Zhao, G.; Urano, F.; Sharma, V. Blocking CHOP-dependent TXNIP shuttling to mitochondria attenuates albuminuria and mitigates kidney injury in nephrotic syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2022, 119, e2116505119.
61. He, Q.; Li, Y.; Zhang, W.; Chen, J.; Deng, W.; Liu, Q.; Liu, Y.; Liu, D. Role and mechanism of TXNIP in ageing-related renal fibrosis. *Mech. Ageing Dev.* 2021, 196, 111475.
62. Avissar, N.; Ornt, D.B.; Yagil, Y.; Horowitz, S.; Watkins, R.H.; Kerl, E.A.; Takahashi, K.; Palmer, I.S.; Cohen, H.J. Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* 1994, 266, C367–C375.
63. Whitin, J.C.; Bhamre, S.; Tham, D.M.; Cohen, H.J. Extracellular glutathione peroxidase is secreted basolaterally by human renal proximal tubule cells. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* 2002, 283, F20–F28.
64. Olson, G.E.; Whitin, J.C.; Hill, K.E.; Winfrey, V.P.; Motley, A.K.; Austin, L.M.; Deal, J.; Cohen, H.J.; Burk, R.F. Extracellular glutathione peroxidase (Gpx3) binds specifically to basement membranes of mouse renal cortex tubule cells. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* 2010, 298, F1244–F1253.
65. Yamamoto, Y.; Takekoshi, Y.; Itami, N.; Honjo, T.; Kojima, H.; Yano, S.; Takahashi, H.; Saito, I.; Takahashi, K. Enzyme-linked immunosorbent assay for extracellular glutathione peroxidase in serum of normal individuals and patients with renal failure on hemodialysis. *Clin. Chim. Acta* 1995, 236, 93–99.
66. Pei, J.; Tian, X.; Yu, C.; Luo, J.; Zhang, J.; Hua, Y.; Wei, G. GPX3 and GSTT1 as biomarkers related to oxidative stress during renal ischemia reperfusion injuries and their relationship with immune infiltration. *Front. Immunol.* 2023, 14, 1136146.
67. Kashani, K.; Al-Khafaji, A.; Ardiles, T.; Artigas, A.; Bagshaw, S.M.; Bell, M.; Bihorac, A.; Birkhahn, R.; Cely, C.M.; Chawla, L.S. Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. *Crit. Care* 2013, 17, R25.

68. Vijayan, A.; Faubel, S.; Askenazi, D.J.; Cerda, J.; Fissell, W.H.; Heung, M.; Humphreys, B.D.; Koyner, J.L.; Liu, K.D.; Mour, G. Clinical use of the urine biomarker [TIMP-2]×[IGFBP7] for acute kidney injury risk assessment. *Am. J. Kidney Dis.* 2016, 68, 19–28.
69. Feng, D.; Ngov, C.; Henley, N.; Boufaied, N.; Gerarduzzi, C. Characterization of matricellular protein expression signatures in mechanistically diverse mouse models of kidney injury. *Sci. Rep.* 2019, 9, 16736.
70. Rayego-Mateos, S.; Morgado-Pascual, J.L.; Rodrigues-Diez, R.R.; Rodrigues-Diez, R.; Falke, L.L.; Mezzano, S.; Ortiz, A.; Egido, J.; Goldschmeding, R.; Ruiz-Ortega, M. Connective tissue growth factor induces renal fibrosis via epidermal growth factor receptor activation. *J. Pathol.* 2018, 244, 227–241.
71. Rayego-Mateos, S.; Campillo, S.; Rodrigues-Diez, R.R.; Tejera-Muñoz, A.; Marquez-Exposito, L.; Goldschmeding, R.; Rodríguez-Puyol, D.; Calleros, L.; Ruiz-Ortega, M. Interplay between extracellular matrix components and cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis. *Clin. Sci.* 2021, 135, 1999–2029.
72. Phanish, M.K.; Winn, S.; Dockrell, M. Connective tissue growth factor-(CTGF, CCN2)—a marker, mediator and therapeutic target for renal fibrosis. *Nephron Exp. Nephrol.* 2010, 114, e83–e92.
73. Sánchez-López, E.; Rodríguez Díez, R.; Rodríguez Vita, J.; Rayego Mateos, S.; Rodríguez Díez, R.; Rodríguez García, E.; Lavoza Barria, C.; Mezzano, S.; Selgas, R.; Egido, J. Connective tissue growth factor (CTGF): A key factor in the onset and progression of kidney damage. *Nefrología* 2009, 29, 382–391.
74. Rayego-Mateos, S.; Morgado-Pascual, J.L.; Lavoza, C.; Rodrigues-Díez, R.R.; Márquez-Expósito, L.; Tejera-Muñoz, A.; Tejedor-Santamaría, L.; Rubio-Soto, I.; Marchant, V.; Ruiz-Ortega, M. CCN2 Binds to Tubular Epithelial Cells in the Kidney. *Biomolecules* 2022, 12, 252.
75. Furie, R.; Rovin, B.H.; Houssiau, F.; Malvar, A.; Teng, Y.K.O.; Contreras, G.; Amoura, Z.; Yu, X.; Mok, C.C.; Santiago, M.B.; et al. Two-Year, Randomized, Controlled Trial of Belimumab in Lupus Nephritis. *N. Engl. J. Med.* 2020, 383, 1117–1128. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001180>.
76. Xia, Y.; Campbell, S.R.; Broder, A.; Herlitz, L.; Abadi, M.; Wu, P.; Michaelson, J.S.; Burkly, L.C.; Putterman, C. Inhibition of the TWEAK/Fn14 pathway attenuates renal disease in nephrotoxic serum nephritis. *Clin. Immunol.* 2012, 145, 108–121.
77. Campbell, S.; Burkly, L.C.; Gao, H.-X.; Berman, J.W.; Su, L.; Browning, B.; Zheng, T.; Schiffer, L.; Michaelson, J.S.; Putterman, C. Proinflammatory effects of TWEAK/Fn14 interactions in glomerular mesangial cells. *J. Immunol.* 2006, 176, 1889–1898.
78. Gao, H.-X.; Campbell, S.R.; Burkly, L.C.; Jakubowski, A.; Jarchum, I.; Banas, B.; Saleem, M.A.; Mathieson, P.W.; Berman, J.W.; Michaelson, J.S. TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) induces inflammatory and proliferative effects in human kidney cells. *Cytokine* 2009, 46, 24–35.
79. Lynch, C.N.; Wang, Y.C.; Lund, J.K.; Chen, Y.-W.; Leal, J.A.; Wiley, S.R. TWEAK induces angiogenesis and proliferation of endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 8455–8459.
80. Justo, P.; Sanz, A.; Sanchez-Nino, M.; Winkles, J.; Lorz, C.; Egido, J.; Ortiz, A. Cytokine cooperation in renal tubular cell injury: The role of TWEAK. *Kidney Int.* 2006, 70, 1750–1758.
81. Sanz, A.B.; Sanchez-Niño, M.D.; Izquierdo, M.C.; Jakubowski, A.; Justo, P.; Blanco-Colio, L.M.; Ruiz-Ortega, M.; Egido, J.; Ortiz, A. Tweak induces proliferation in renal tubular epithelium: A role in uninephrectomy induced renal hyperplasia. *J. Cell. Mol. Med.* 2009, 13, 3329–3342.

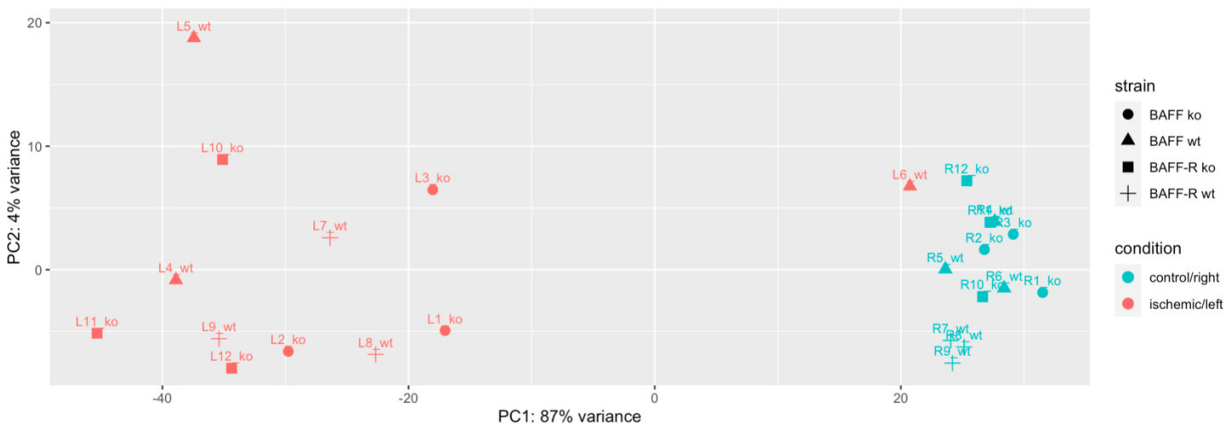
82. Sanz, A.B.; Sanchez-Niño, M.D.; Ortiz, A. TWEAK, a multifunctional cytokine in kidney injury. *Kidney Int.* 2011, 80, 708–718.
83. Schwartz, N.; Su, L.; Burkly, L.C.; Mackay, M.; Aranow, C.; Kollaros, M.; Michaelson, J.S.; Rovin, B.; Putterman, C. Urinary TWEAK and the activity of lupus nephritis. *J. Autoimmun.* 2006, 27, 242–250.
84. Schwartz, N.; Rubinstein, T.; Burkly, L.C.; Collins, C.E.; Blanco, I.; Su, L.; Hojaili, B.; Mackay, M.; Aranow, C.; Stohl, W. Urinary TWEAK as a biomarker of lupus nephritis: A multicenter cohort study. *Arthritis Res. Ther.* 2009, 11, R143.
85. Lu, J.; KWAN, B.C.H.; LAI, F.M.M.; CHOI, P.C.L.; TAM, L.S.; LI, E.K.M.; CHOW, K.M.; Wang, G.; LI, P.K.T.; SZETO, C.C. Gene expression of TWEAK/Fn14 and IP-10/CXCR3 in glomerulus and tubulointerstitium of patients with lupus nephritis. *Nephrology* 2011, 16, 426–432.
86. Baisanry, A.; Bhayana, S.; Rong, S.; Ermeling, E.; Wrede, C.; Hegermann, J.; Pennekamp, P.; Sörensen-Zender, I.; Haller, H.; Melk, A. Autophagy induces prosenescent changes in proximal tubular S3 segments. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 2016, 27, 1609.
87. Meseguer, A.; Catterall, J.F. Mouse kidney androgen-regulated protein messenger ribonucleic acid is expressed in the proximal convoluted tubules. *Mol. Endocrinol.* 1987, 1, 535–541.
88. Tornavaca, O.; Pascual, G.; Barreiro, M.; Grande, M.; Carretero, A.; Riera, M.; Garcia-Arumi, E.; Bardaji, B.; González-Núñez, M.; Montero, M. Kidney androgen-regulated protein transgenic mice show hypertension and renal alterations mediated by oxidative stress. *Circulation* 2009, 119, 1908–1917.
89. de Quixano, B.B.; Villena, J.A.; Aranda, M.; Brils, G.; Cuevas, A.; Hespel, T.; Lekuona, H.; Suárez, C.; Tornavaca, O.; Meseguer, A. Kidney androgen-regulated protein (KAP) transgenic mice are protected against high-fat diet induced metabolic syndrome. *Sci. Rep.* 2017, 7, 16102.
90. Tornavaca, O.; Sarro, E.; Pascual, G.; Bardaji, B.; Montero, M.A.; Salcedo, M.T.; Plana, M.; Lopez-Hellin, J.; Itarte, E.; Meseguer, A. KAP degradation by calpain is associated with CK2 phosphorylation and provides a novel mechanism for cyclosporine A-induced proximal tubule injury. *PLoS ONE* 2011, 6, e25746.
91. Melchinger, H.; Calderon-Gutierrez, F.; Obeid, W.; Xu, L.; Shaw, M.M.; Luciano, R.L.; Kuperman, M.; Moeckel, G.W.; Kashgarian, M.; Wilson, F.P. Urine uromodulin as a biomarker of kidney tubulointerstitial fibrosis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2022, 17, 1284–1292.
92. Rampoldi, L.; Scolari, F.; Amoroso, A.; Ghiggeri, G.; Devuyst, O. The rediscovery of uromodulin (Tamm–Horsfall protein): From tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2011, 80, 338–347.
93. Köttgen, A.; Glazer, N.L.; Dehghan, A.; Hwang, S.-J.; Katz, R.; Li, M.; Yang, Q.; Gudnason, V.; Launer, L.J.; Harris, T.B. Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nat. Genet.* 2009, 41, 712–717.
94. Köttgen, A.; Pattaro, C.; Böger, C.A.; Fuchsberger, C.; Olden, M.; Glazer, N.L.; Parsa, A.; Gao, X.; Yang, Q.; Smith, A.V. New loci associated with kidney function and chronic kidney disease. *Nat. Genet.* 2010, 42, 376–384.
95. Jennings, P.; Aydin, S.; Kotanko, P.; Lechner, J.; Lhotta, K.; Williams, S.; Thakker, R.V.; Pfaller, W. Membrane targeting and secretion of mutant uromodulin in familial juvenile hyperuricemic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007, 18, 264–273.

96. El-Achkar, T.M.; Wu, X.-R.; Rauchman, M.; McCracken, R.; Kiefer, S.; Dagher, P.C. Tamm-Horsfall protein protects the kidney from ischemic injury by decreasing inflammation and altering TLR4 expression. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* 2008, 295, F534–F544.
97. Pugliese, N.R.; Masi, S.; Taddei, S. The renin-angiotensin-aldosterone system: A crossroad from arterial hypertension to heart failure. *Heart Fail. Rev.* 2020, 25, 31–42.
98. Sparks, M.A.; Crowley, S.D.; Gurley, S.B.; Mirosou, M.; Coffman, T.M. Classical renin-angiotensin system in kidney physiology. *Compr. Physiol.* 2014, 4, 1201.
99. Živná, M.; Hůlková, H.; Matignon, M.; Hodaňová, K.; Vylet'al, P.; Kalbáčová, M.; Barešová, V.; Sikora, J.; Blažková, H.; Živný, J. Dominant renin gene mutations associated with early-onset hyperuricemia, anemia, and chronic kidney failure. *Am. J. Hum. Genet.* 2009, 85, 204–213.
100. Gorelik, L.; Gilbride, K.; Dobles, M.; Kalled, S.L.; Zandman, D.; Scott, M.L. Normal B cell homeostasis requires B cell activation factor production by radiation-resistant cells. *J. Exp. Med.* 2003, 198, 937–945.
101. Schiemann, B.; Gommerman, J.L.; Vora, K.; Cachero, T.G.; Shulga-Morskaya, S.; Dobles, M.; Frew, E.; Scott, M.L. An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA-independent pathway. *Science* 2001, 293, 2111–2114.
102. Sasaki, Y.; Casola, S.; Kutok, J.L.; Rajewsky, K.; Schmidt-Supprian, M. TNF family member B cell-activating factor (BAFF) re-ceptor-dependent and-independent roles for BAFF in B cell physiology. *J. Immunol.* 2004, 173, 2245–2252.
103. Song, H.K.; Hwang, D.Y. Use of C57BL/6N mice on the variety of immunological researches. *Lab. Anim. Res.* 2017, 33, 119–123.
104. Salant, D.J.; Cybulsky, A.V. [38] Experimental glomerulonephritis. In *Methods in Enzymology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 1988; Volume 162, pp. 421–461.
105. Dülsner, A.; Hack, R.; Krüger, C.; Pils, M.; Scherer, K.; Schmelting, B.; Schmidt, M.; Weinert, H.; Jourdan, T. Empfehlung zur Substanzapplikation bei Versuchstieren. *Fachinf. Aus Dem Aussch. Für Tier-schutzbeauftragte Und Dem Arbeitskreis* 2017, 4, 1–8.
106. Bray, N.L.; Pimentel, H.; Melsted, P.; Pachter, L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nat. Biotechnol.* 2016, 34, 525–527. <https://doi.org/10.1038/nbt.3519>.
107. Love, M.I.; Huber, W.; Anders, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 2014, 15, 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>.
108. Benjamini, Y.; Hochberg, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B* 1995, 57, 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>.
109. Blighe, K.; Rana, S.; Lewis, M. EnhancedVolcano: Publication-Ready Volcano Plots with Enhanced Colouring and Labeling. Available online: <https://github.com/kevinblighe/EnhancedVolcano> (accessed on 4 November 2022).
110. Wickham, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2016.

10 Anhang

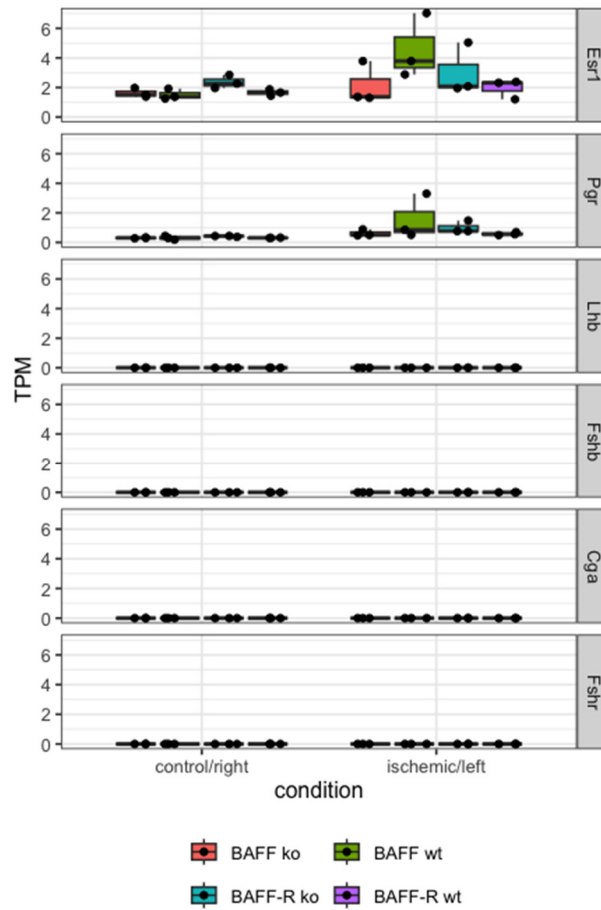
Dem Anhang sind die Zusatzmaterialien beider Publikationen, die Publikationslizenzen für die verwendeten Abbildungen sowie Angaben zu den Repositorien der den Publikationen zugrunde liegenden Datensätze zu entnehmen.

10.1 Supplement zur Publikation *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice*



S1 Fig. Principal component analysis (PCA) of ischemic and contralateral control kidneys. BAFF (B6.129S2-*Tnfrsf13b^{tm1Msc/J}*) and BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c^{tm1Mass/J}*) strain.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619.s001>



S2 Fig. Transcripts per million (TPM) of genes along hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Analyzed in ischemic kidneys compared to contralateral control in BAFF (B6.129S2-*Tnfrsf13b^{tm1Msc/J}*) and BAFF-R (B6(Cg)-*Tnfrsf13c^{tm1Mass/J}*) strain, in each case distinguished between knockout (ko) and wildtype (wt) mice. Esr1: estrogen receptor 1, Pgr: progesterone receptor, Lhb: luteinizing hormone subunit beta, Fshb: follicle stimulating hormone subunit beta, Cga: glycoprotein hormones alpha chain, Fshr: follicle stimulating hormone receptor.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619.s002>

Der nachfolgende Tabellenauszug der Excel-Datei **S1 File** ist vollständig unter <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291619.s003> als Download abrufbar:

Column1	baseMean	log2FoldChange	lfcSE	stat	pvalue	padj
	1,83611E+13	1,38881E+13	1,34873E+14	2,88278E+12	3,94183E+14	4,18372E+14
1110002E22Rik	1,0101E+14	5,0855E+14	6,7051E+14	6,09313E+14	110725,6732	4993840,005
1500009L16Rik	4,05823E+14	2,03456E+14	2,15921E+14	4,7914E+14	165624499	4121858556
1700001F09Rik	4,23464E+14	5,02534E+14	9,39954E+14	4,28248E+14	1848197992	3,70037E+14
1700019D03Rik	3,04412E+14	-2,02473E+14	3,30104E+14	-3,10428E+14	1,90742E+14	2,2436E+14
1700020N01Rik	4,18415E+14	-3,76173E+14	8,2106E+14	-3,36362E+14	7,69287E+14	1,01745E+14
1700028J19Rik	1,23886E+14	-2,10342E+14	3,17295E+14	-3,47758E+14	5,05964E+14	7,07225E+13
2200002D01Rik	2,3562E+14	2,54148E+14	2,17151E+14	7,09865E+14	125,9825728	876,9911412
2610318N02Rik	1,03634E+14	2,25928E+14	4,04225E+14	3,11529E+14	1,83765E+14	2,16836E+14
2610528J11Rik	5,69657E+13	-1,55392E+14	1,91789E+14	-2,88818E+14	3,87476E+14	4,11925E+14
2700099C18Rik	1,88647E+14	2,05056E+14	3,06675E+14	3,42564E+14	6,1335E+14	8,36662E+14
4833439L19Rik	1,04583E+14	-1,71389E+14	2,0235E+14	-3,52797E+14	4,18754E+14	5,96161E+14
4930503L19Rik	7,83865E+14	1,50903E+14	1,7593E+13	2,8934E+14	3,81099E+13	4,06556E+14
4931406C07Rik	7,61005E+14	-2,27913E+14	2,21669E+14	-5,77043E+14	790674,3737	31285324,96
4933417A18Rik	2,06086E+14	-2,88774E+14	4,68406E+14	-4,03014E+14	5574441740	9,96724E+14
9030619P08Rik	4,03978E+14	-4,43165E+14	7,21589E+14	-4,75568E+14	197776862,4	4817824665
9530053A07Rik	6,94717E+14	2,95569E+14	4,82755E+12	4,0511E+14	5097658021	9,19883E+14
A530064D06Rik	1,51182E+14	3,19861E+14	4,40163E+14	4,99499E+14	58838260,01	1616482028
A630076J17Rik	1,65233E+14	-2,73889E+14	5,67611E+14	-3,06352E+14	2,18748E+14	2,52892E+14
AA414768	3,75049E+14	2,0215E+14	2,00626E+14	5,09158E+14	35509689,36	1027522239

S1 File. This file contains all differentially expressed genes with adjusted p-value < 0.05 and log2foldchange > 1, < -1 resp. File named 'DE_results_filtered' and is additionally available at <https://github.com/sebboegel/moeckel2022>.

10.2 Supplement der Publikation *Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis*

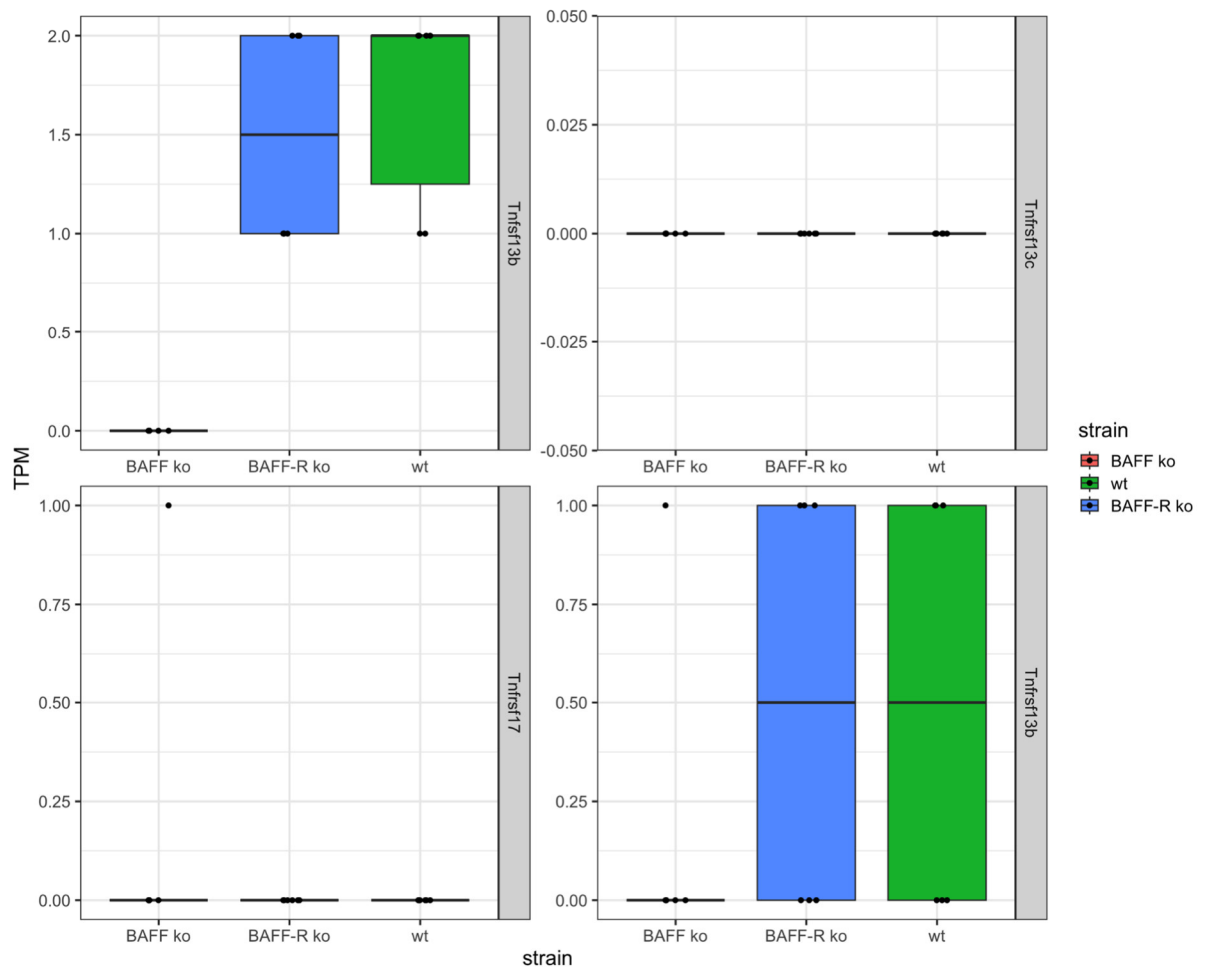


Figure S1: Analyzed genes (BAFF/BAFF-R system) of kidneys 21 days after administration of nephrotoxic serum in BAFF KO (B6.129S2-*Tnfsf13b*^{tm1Msc/J}), BAFF-R KO (B6(Cg)-*Tnfrsf13c*^{tm1Mass/J}) and wildtype (C57BL/6J) strain visualized as transcripts per million (TPM). *Tnfsf13b*: BAFF, *Tnfrsf13c*: BAFF-R, *Tnfrsf17*: BCMA, *Tnfrsf13b*: TACI. ko: knockout, wt: wildtype. Each point shows one sample.

10.3 Publikationslizenzen

Die in der vorliegenden kumulativen Dissertation verwendete **Abb. 1** sowie die Abbildungen **Fig 1** in der Publikation *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice* und **Figure 5** in der Publikation *Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis* wurden mit [BioRender.com](https://www.biorender.com) erstellt. Nachfolgend die entsprechenden Publikationslizenzen.

Publikationslizenz der **Abb. 1** in der vorliegenden kumulativen Dissertation:



49 Spadina Ave. Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights - Open Access

September 27th, 2024

Subscription Type: *Individual - Academic*
Agreement number: *DB27CUXQYZ*
Publisher Name: *Gutenberg Open Science - Johannes Gutenberg University, Mainz*

Figure Title: *Abb. 1. Schematische Darstellung von Niere und Nephron.*

Citation to Use: *Created in BioRender. Möckel, T. (2024) [BioRender.com/f06c768](https://www.biorender.com/f06c768)*

To whom this may concern,

This document ("Confirmation") hereby confirms that Science Suite Inc. dba BioRender ("BioRender") has granted the following BioRender user: Tamara Möckel ("User") a BioRender Academic Publication License in accordance with BioRender's [Terms of Service](#) and [Academic License Terms](#) ("License Terms") to permit such User to do the following on the condition that all requirements in this Confirmation are met:

- 1) publish their Completed Graphics created in the BioRender Services containing both User Content and BioRender Content (as both are defined in the License Terms) in publications (journals, textbooks, websites, etc.); and
- 2) sublicense such Completed Graphics under "open access" publication sublicensing models such as CC-BY 4.0 and more restrictive models, so long as the conditions set forth herein are fully met.

Requirements of User:

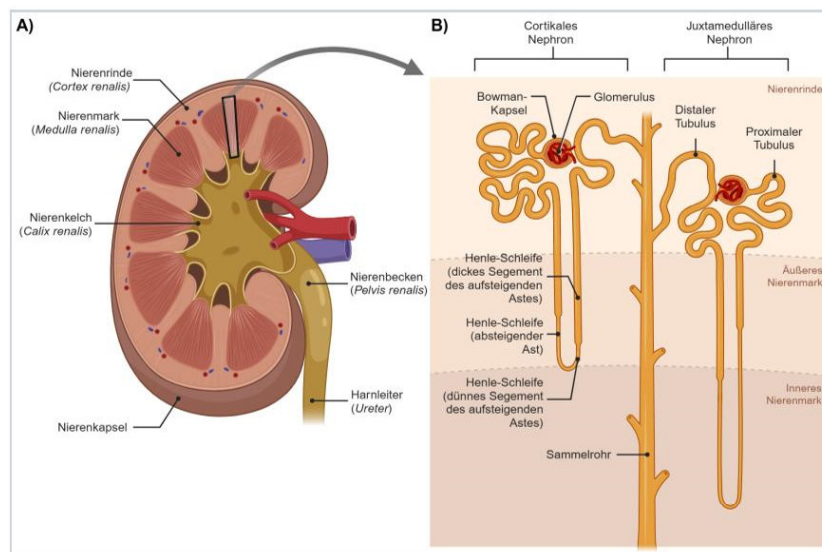
- 1) All Completed Graphics to be published in any publication (journals, textbooks, websites, etc.) must be accompanied by the following citation either as a caption, footnote or reference for each figure that includes a Completed Graphic:
"Created in BioRender. Möckel, T. (2024) [BioRender.com/f06c768](https://www.biorender.com/f06c768)".
- 2) All terms of the License Terms including all Prohibited Uses are fully complied with. E.g. For Academic License Users, no commercial uses (beyond publication in journals, textbooks or websites) are permitted without obtaining or switching to a BioRender Industry Plan.
- 3) A Reader (defined below) may request that the User allow their figure to be a public template for Readers to view, copy, and modify the figure. It is up to the User to determine what level of access to grant.

Open-Access Journal Readers:

Open-Access journal readers ("Reader") who wish to view and/or re-use a particular Completed Graphic in an Open-Access journal subject to CC-BY sublicensing may do so by clicking on the URL link in the applicable citation for the subject Completed Graphic.

The re-use/modification options below are available after the Reader requests the User to adapt their figure as a BioRender template and the User has granted such access.

- 1) **View-Only/Free Plan Use:** A Reader who wishes to only view the Completed Graphic may do so in the BioRender Services as either a BioRender Free Plan user or simply as a viewer. By becoming a BioRender Free Plan user, the Reader may view, modify and re-use the Completed Graphic as permitted under BioRender's [Basic License Terms](#) (e.g. personal use only, no publishing or commercial use permitted).
- 2) **Re-Use/Publish with No Modifications:** For any re-use and re-publication of a Completed Graphic with no modification(s) to the Completed Graphic made by the Reader, a Reader may do so by citing the original author using the citation noted above with the Completed Graphic. The Reader must also comply with the underlying License Terms which apply to the Completed Graphic as noted above (e.g. no commercial use for Academic License).
- 3) **Re-Use/Publish with Modifications:** For any re-use and re-publication of a Completed Graphic with a modification(s) made by the Reader, the Reader may do so by becoming a BioRender user themselves under either an Academic or Industry Plan, citing the original author using the citation noted above with the Completed Graphic and complying with the applicable License Terms.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender, please refer to our [BioRender Publication Guide](#), or contact BioRender Support at support@biorender.com.

Publikationslizenz der **Fig 1** in der Publikation *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice*:



49 Spadina Ave. Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights

November 25th, 2022
Science Suite Inc.

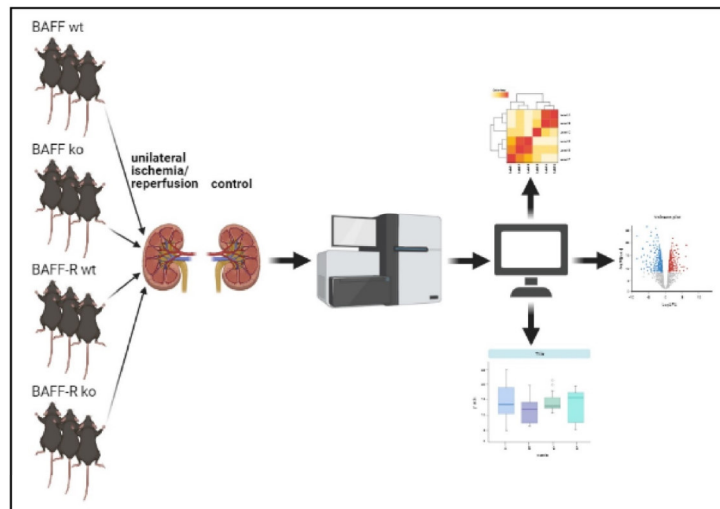
Subscription: Individual
Agreement number: KR24OTZECT
Journal name: PLOS ONE

To whom this may concern,

This document is to confirm that Tamara Möckel has been granted a license to use the BioRender content, including icons, templates and other original artwork, appearing in the attached completed graphic pursuant to BioRender's [Academic License Terms](#). This license permits BioRender content to be sublicensed for use in journal publications.

All rights and ownership of BioRender content are reserved by BioRender. All completed graphics must be accompanied by the following citation: "Created with BioRender.com".

BioRender content included in the completed graphic is not licensed for any commercial uses beyond publication in a journal. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender refer to our [BioRender Publication Guide](#), or contact BioRender Support at support@biorender.com.

Publikationslizenz der **Figure 5** in der Publikation *Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis*:



49 Spadina Ave. Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights

May 11th, 2024
Science Suite Inc.

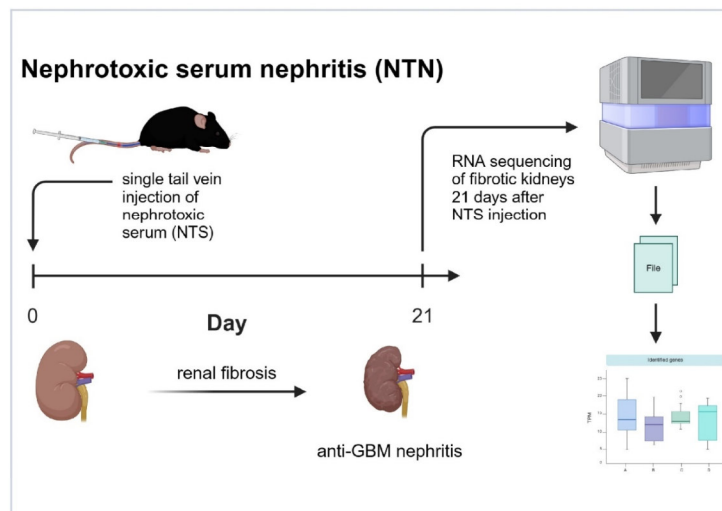
Subscription: Individual
Agreement number: YH26TOLETD
Journal name: International Journal of Molecular Science

To whom this may concern,

This document is to confirm that Tamara Möckel has been granted a license to use the BioRender content, including icons, templates and other original artwork, appearing in the attached completed graphic pursuant to BioRender's [Academic License Terms](#). This license permits BioRender content to be sublicensed for use in journal publications.

All rights and ownership of BioRender content are reserved by BioRender. All completed graphics must be accompanied by the following citation: "Created with BioRender.com".

BioRender content included in the completed graphic is not licensed for any commercial uses beyond publication in a journal. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender refer to our [BioRender Publication Guide](#), or contact BioRender Support at support@biorender.com.

10.4 Repositorium

<https://github.com/sebboegel/moeckel2022>

Inhalt: Alle Skripte und Dateien der zugrunde liegenden Analysen sowie die Ergebnisse der differenziellen Genexpressionsanalyse in Form einer Excel-Datei, die zur Reproduktion der Abbildungen und Analysen der Publikation *Transcriptome analysis of renal ischemia/reperfusion (I/R) injury in BAFF and BAFF-R deficient mice* nötig sind.

https://github.com/sebboegel/nts_moeckel_2024

Inhalt: Alle Skripte und Dateien der zugrunde liegenden Analysen, die zur Reproduktion der Abbildungen und Analysen der Publikation *Transcriptome Analysis of BAFF/BAFF-R System in Murine Nephrotoxic Serum Nephritis* nötig sind.

11 Danksagung

Meinem Erstbetreuer sowie Erstgutachter Herrn Prof. Dr. med. Andreas Schwarting danke ich für die Möglichkeit, diese kumulative Dissertation in seiner Arbeitsgruppe in der Rheumatologie der Universitätsmedizin Mainz anfertigen zu können. Ich danke Dir für die zahlreichen wie lehrreichen Erfahrungen während meines Promotionsvorhabens, den großen Gestaltungsrahmen sowie den Freiraum zur Eigenständigkeit und die Gelegenheit, parallel bereits Vollzeit im Berufsleben Fuß zu fassen.

Ich danke Dr. habil. Michael Schaffeld für die Übernahme des Zweitgutachtens dieser kumulativen Dissertation.

Prof. Dr. Bernhard Lieb danke ich für die Übernahme der Zweitbetreuung dieser kumulativen Dissertation.

Mein Dank geht ebenfalls an Dr. Sven-Ernö Bikár und sein Team bei der StarSEQ GmbH für die professionelle Sequenzierung meiner Proben.

Dr. Sebastian Boegel danke ich für die Unterstützung bei der bioinformatischen Analyse der dieser Arbeit zugrunde liegenden Versuche sowie bei der Verwirklichung der beiden Publikationen. Ich danke Dir recht herzlich für den wissenschaftlichen Austausch, die anregenden Diskussionen und Deine stets ehrliche Einschätzung der Sachverhalte.

Prof. Dr. Andrea Pautz danke ich für die ausführlichen Gespräche zu den ersten Ergebnissen der unilateralen Ischämie/Reperfusion. Danke für Deine Zeit, die wissenschaftlichen Diskurse und vor allem Deinen Zuspruch.

Ich danke dem gesamten Team des *Translational Animal Research Centers* (TARC) für die Unterstützung hinsichtlich der tierexperimentellen Angelegenheiten. Ein besonderer Dank geht an die Tierschutzbeauftragten für die Unterstützung wie Beratung bei Planung, Realisierung und Durchführung der Versuche. Den Tierpflegern danke ich für die gute Zusammenarbeit bei der Zucht und Haltung der Mausstämme.

Bettina Steinmann danke ich für die kompetente Assistenz bei der Applikation des Nephrotoxischen Serums. Danke, dass Du immer eine praktische Idee parat hattest und damit die Arbeit vereinfacht hast.

Myriam Meineck danke ich für die kollegiale Aufnahme ins Labor zu Beginn meiner Promotion und die kompetente Einarbeitung. Ich bin Dir für die stets sachorientierte Zusammenarbeit über Arbeitsgruppen-Grenzen hinweg und die zahlreichen Gespräche äußerst dankbar.

Bei meinen Arbeitskollegen möchte ich mich für das kollegiale Arbeitsklima bedanken, die tollen Gespräche und das Verständnis sowie die Unterstützung, diese kumulative Dissertation neben meiner Vollzeittätigkeit fertigzustellen.

Meinen Eltern danke ich für die gewährten Freiräume und die fortwährende Unterstützung, mich stets meinen Weg gehen zu lassen.

Larissa Möckel danke ich recht herzlich für das professionelle Lektorat dieser kumulativen Dissertation. Als meiner kleinen, großen Schwester danke ich Dir für die Gewissheit unserer Verbundenheit, selbst in Zeiten der Stille.

Im Besonderen danke ich meinem Partner, der mich nun fast schon mein halbes Leben lang begleitet, nicht nur in Höhen, auch durch die Tiefen des Lebens. Du zeigst mir auf, was im Leben wirklich wichtig ist und erweiterst meine Sichtweise mit Deinem ganz eigenen Blick auf die Welt. Dafür liebe ich Dich.

Mein Dank gilt allen, die mich während meines Promotionsvorhabens und im Entstehungsprozess dieser Arbeit mit Rat und Tat begleitet und unterstützt haben sowie allen fleißigen Korrekturlesern meiner Manuskripte für die Publikationen und der Roh- wie Endfassung dieser kumulativen Dissertation.

12 Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich, Tamara Möckel, gemäß § 12 (2) der Promotionsordnung vom 01.04.2018 an Eides statt, die vorliegende kumulative Dissertation selbstständig und ausschließlich unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt zu haben. Die vorliegende Arbeit habe ich noch an keiner anderen Hochschule zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht. Ich habe noch keinen vorherigen Promotionsversuch unternommen.

[Redacted]

Ort, Datum

[Redacted]

Tamara Möckel

13 Lebenslauf

Zur Person

Name

Tamara Möckel

Geburtstag

Geburtsort

Anschrift

Telefon

Mobil

E-Mail



Berufserfahrung

seit Januar 2023

Studienkoordinatorin

Studienzentrum Rheumatologie

I. Medizinische Klinik und Poliklinik –
Rheumatologie und Klinische Immunologie
Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Langenbeckstraße 1
55131 Mainz

seit Januar 2023

Laborleitung

Forschungslabor Rheumatologie

I. Medizinische Klinik und Poliklinik –
Rheumatologie und Klinische Immunologie
Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Langenbeckstraße 1
55131 Mainz

seit Dezember 2017

Wissenschaftliche Mitarbeiterin

I. Medizinische Klinik und Poliklinik –
Rheumatologie und Klinische Immunologie
Universitätsmedizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Langenbeckstraße 1
55131 Mainz

Funktionen

seit Mai 2024	Projektleiterin in der Gentechnik
August 2023 – August 2024	Beauftragte für Biologische Sicherheit in der Gentechnik
Oktober 2021 – Mai 2024	Stellvertretende Projektleiterin in der Gentechnik

Ausbildung

seit Dezember 2017	Promotion I. Medizinische Klinik und Poliklinik – Rheumatologie und Klinische Immunologie Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz Langenbeckstraße 1 55131 Mainz
SoSe 2015 – WS 2017/18	Johannes Gutenberg-Universität Mainz Masterstudium Biologie (M. Sc.) Schwerpunkt: Molekulare Strukturbiologie, Zellbiologie, Biotechnologie
SoSe 2011 – WS 2014/15	Johannes Gutenberg-Universität Mainz Bachelorstudium Molekulare Biologie (B. Sc.)

Fortbildungen – Projektmanagement

31. Juli 2024	Hybrides Projektmanagement Johannes Gutenberg-Universität Mainz
29. Juli 2024	Projektmanagement Universitätsmedizin Mainz
07. November 2022 – 08. November 2022	Projektmanagement Johannes Gutenberg-Universität Mainz
12. September 2022 – 13. September 2022	Agiles Projektmanagement Johannes Gutenberg-Universität Mainz
12. Oktober 2021	Basiszertifikat im Projektmanagement (GPM) PM-ZERT gültig ab: 12.10.2021 gültig bis: 11.10.2026

26. August 2021 – Basistraining Projektmanagement Modul II
27. August 2021

02. August 2021 – Basistraining Projektmanagement Modul I
03. August 2021

Fortbildungen – Klinische Studien

01. Oktober 2024 Grundlagenkurs MPG und MPDG
IZKS

21. November 2023 IATA Zertifikat
Transporting Dangerous Goods
ASCLS P.A.C.E. Certificate

04. Oktober 2023 Gefahrgutschulung gemäß Kap. 1.3 und 1.10 ADR
Beförderung gefährlicher Güter
Versand biologischer Proben
Universitätsmedizin Mainz

02. Dezember 2022 ICH-GCP E6 (R2) Zertifikat
The Global Health Network

28. September 2022 – Basismodul ›Grundlagenkurs Klinische Studien‹
29. September 2022 IZKS

Fortbildungen – Gentechnik

09. September 2024 – Sicherheit in der Gentechnik
10. September 2024 Projektleiter und Beauftragte für Biologische Sicherheit in
der Gentechnik nach § 15 GenTSV
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Fortbildungen – Forschung

17. Mai 2021 – Aufbaumodul für Versuchsleiter
21. Mai 2021 TARC – Universitätsmedizin Mainz

11. Juli 2019 Workshop ›Gute Wissenschaftliche Praxis‹
TransMed – Universitätsmedizin Mainz

08. Mai 2019 3R – Refinementmodul
Handling und Training von Labornagern
TARC – Universitätsmedizin Mainz

19. Februar 2018 –
23. Februar 2018

FELASA Function A (ehemals Kat. B) Zertifikat
TARC – Universitätsmedizin Mainz

Publikationen

ORCID 0000-0002-2167-8369

Zusatzqualifikationen

IT-Kenntnisse MS Office (Word, Excel, Power Point)
SAP (Laboranforderungen, Klinischer Arbeitsplatz)

Sprachkenntnisse Deutsch (Muttersprache)
Englisch (gut in Wort und Schrift)
Latein (Latinum)

Führerschein Klasse B (seit 2008)

23. Oktober 2024



Tamara Möckel