

Aus der Medizinischen Universitätsklinik  
Abteilung Innere Medizin I – Endokrinologie, Stoffwechsel und Klinische Chemie  
der Universität Heidelberg

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Peter Nawroth

in Zusammenarbeit mit dem Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie der  
Otto-von-Guericke Universität Magdeburg

Direktor: Prof. Dr. med. Berend Isermann

Titel:

**Aktiviertes Protein C kontrolliert epigenetisch p66shc:  
Ein neuer Schutzmechanismus im Rahmen der  
experimentellen diabetischen Nephropathie**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des medizinischen Doktorgrades  
an der Medizinischen Fakultät Heidelberg  
der  
Ruprecht-Karls-Universität

Vorgelegt 2015  
von Fabian Maximilian Bock  
geboren in Peine

Tag der mündlichen Prüfung:  
- 8. JULI 2016

## **INHALT**

### **Abkürzungsverzeichnis**

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1. Grundlagen	1
1.1.1. Die diabetische Nephropathie	1
1.1.2. Die diabetische Nephropathie und Epigenetik	1
1.1.3. Oxidativer Stress, Epigenetik und die diabetische Nephropathie	3
1.1.4. Mechanismen und epigenetische Regulation von p66shc	6
1.1.5. Aktiviertes Protein C	8
1.1.6. aPC und die diabetische Nephropathie	9
1.1.7. Zusammenfassung aPC	10
1.2. Fragestellungen der Arbeit	12
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>14</b>
2.1. Antikörper	14
2.2. Primer	15
2.3. Mäuse und Mausmodelle	15
2.3.1. Mäuse	15
2.3.2. Modelle der diabetischen Nephropathie	16
2.4. Bestimmung der Albuminurie	17
2.5. Gewebefärbungen und Immunhistochemie	18
2.6. Zellkultur und Knock-Down Zelllinien	19
2.7. Proteinaufreinigung, SDS-PAGE und Western Blot	21
2.8. Bestimmung der ROS-Produktion und des mitochondrialen Membranpotenzials	22
2.9. Subzelluläre Fraktionierung	23
2.10. Chromatin-Immunpräzipitation	23
2.11. RT-PCR	24
2.12. Methylierungsspezifische PCR	25
2.13. Statistik	26

<b>3. Ergebnisse</b>	<b>28</b>
3.1. Endogenes und exogen appliziertes aktiviertes Protein C hemmt die Formation reaktiver Sauerstoffspezies in Glomeruli und Podozyten	28
3.2. Aktiviertes Protein C moduliert p66shc in Podozyten <i>in vitro</i> , aber nicht in glomerulären Endothelzellen	32
3.3. Aktiviertes Protein C verhindert und reduziert die Akkumulation von hyperglykämie-induziertem p66shc in den Podozyten <i>in vivo</i>	37
3.4. P66shc wird in kultivierten Podozyten von aPC epigenetisch supprimiert	39
3.5. aPC reguliert epigenetisch p66shc im diabetischen Mausmodell <i>in vivo</i>	42
3.6. aPC verhindert die mitochondriale Translokation von p66shc und hält das mitochondriale Membranpotenzial aufrecht	44
3.7. Der genetische Verlust von p66shc schützt im diabetischen Mausmodell vor durch verringerte Protein C-Aktivierung induzierten Nierenschäden	46
<b>4. Diskussion</b>	<b>49</b>
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>54</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b>	<b>56</b>
<b>7. Eigene Veröffentlichungen</b>	<b>65</b>
<b>8. Lebenslauf</b>	<b>67</b>
<b>9. Danksagung</b>	<b>69</b>