

Charité Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
Abteilung Klinische Pharmakologie
Direktor: Univ. Prof. Dr. med. Martin Paul

**„Experimentelle Genetik der
salzsensitiven Hypertonie und
hypertensiven Endorganschäden“**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
Doctor rerum medicarum
der Charité-Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von
Anja-Kristin Siegel
aus Leipzig

Referent: Prof. Dr. Reinhold Kreutz

Korreferent: Prof. Dr. Burghardt Wittig

Gedruckt mit Genehmigung der Charité-Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 17.12.2004

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	1
1 EINLEITUNG	1
1.1 Die primäre Hypertonie und ihre Bedeutung	1
1.2 Bedeutung von Salzsensitivität und Kochsalz	3
1.3 Bluthochdruckassoziierte Organschäden	6
1.3.1 Niere	6
1.3.2 Herz und Gefäße	7
1.4 Tiermodelle zur Untersuchung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen	8
1.5 Häufig verwendete Rattenmodelle für das Krankheitsbild Hypertonie	9
1.6 Strategien zur Identifizierung von Genen	10
1.7 Ziel der Arbeit	16
2 MATERIAL UND METHODEN	21
2.1 Material	21
2.1.1 Chemikalien und Radionukleotide	21
2.1.2 Enzyme	22
2.1.3 Puffer und Lösungen	22
2.1.4 Polymorphe Primer für die Genomanalyse	23
2.1.5 Sonstige Materialien und Futtermittel	23
2.1.6 Geräte	24
2.2 Methoden	26
2.2.1 Haltung	26
2.2.2 Zucht	26
2.2.2.1 Parentaltiere	26
2.2.2.2 F2-Tiere Dahl/SS/Jr x SHR/Mol	26
2.2.3 Versuchsprotokoll	27

2.2.4	Phänotypische Charakterisierung -----	27
2.2.4.1	Blutdruckmessung -----	27
2.2.4.2	Uringewinnung für die Ermittlung klinischer Parameter -----	28
2.2.4.3	Bestimmung der Protein-Ausscheidung -----	28
2.2.4.4	Biochemische Analysen -----	29
2.2.4.5	Präparation -----	29
2.2.4.6	Histologie -----	30
2.2.5	Genom- und Kopplungsanalyse -----	30
2.2.5.1	DNA-Isolierung -----	30
2.2.5.2	Prinzip der Genomanalyse -----	31
2.2.5.3	Genotypische Charakterisierung der F2-Population -----	32
2.2.5.4	Statistische Analyse -----	36
2.2.6	Kongene Rattenstämme -----	36
2.2.6.1	Prinzip -----	36
2.2.6.2	Züchtung nach der Speed congenics-Methode -----	37
2.2.7	Homologievergleich und Ermittlung krankheitsrelevanter Kandidatengene -----	38
3	ERGEBNISSE -----	41
3.1	Genotypische Charakterisierung der Parentalstämme -----	41
3.2	Phänotypische Charakterisierung der Parentalstämme -----	41
3.2.1	Systolischer Blutdruck und Salzsensitivität -----	41
3.2.2	Ausprägung von Endorganschäden in Dahl/SS/Jr- und SHR/Mol-Ratte -----	42
3.3	Kosegregationsanalyse -----	46
3.3.1	Phänotypische Charakterisierung der F2-Population Dahl/SS/Jr x SHR/Mol -----	46
3.3.2	Genotypische Charakterisierung der F2-Population Dahl/SS/Jr x SHR/Mol -----	52
3.3.3	QTL-Mapping und Kopplungsanalyse -----	52
3.3.4	Einfluss der QTL-Anzahl auf die Phänotyp-Ausprägung -----	71
3.4	Kongene Rattenstämme -----	76
3.5	Lokalisation krankheitsrelevanter Kandidatengene -----	76
3.5.1	Gene des RAAS -----	77
3.5.2	Gene des SNS -----	78
3.5.3	Gene des ETS -----	79
3.5.4	Gene des KKS -----	79
3.6	Homologievergleich mit dem Menschen (Comparative Mapping) -----	80

4	DISKUSSION	83
4.1	Phänotypisierung der Parentalstämme	84
4.2	Kosegregationsanalyse	85
4.2.1	Blutdruck	85
4.2.2	Hochdruckassoziierte Endorganschäden	87
4.2.2.1	Niere	87
4.2.2.2	Herz und Gefäße	90
4.2.3	Interpretation der Kopplungsanalyse	92
4.3	Kolokalisationen krankheitsrelevanter Kandidatengene	94
4.4	Zusammenfassung und Ausblick	97
5	ABKÜRZUNGEN	101
6	LITERATUR	105
7	ANHANG	115
7.1	Polymorphe Primer für die Genomanalyse	115
7.2	Danksagung	125
7.3	Publikationen	126
7.4	Auszeichnungen	129

Abstract

A substantial proportion of patients with essential hypertension demonstrate significant changes of blood pressure in response to changes in dietary salt intake and have thus been classified as salt-sensitive. The epidemiological and clinical importance of salt-sensitive hypertension is highlighted by the fact that the prevalence is high and increases with age and that the manifestation of target organ damage is more severe. Particularly in aging populations, this disease phenotype plays a significant role as a factor contributing to the development of cardiovascular and renal diseases. Familial aggregation and the higher prevalence of salt-sensitive hypertension in specific ethnic populations point to the potential importance of genetic factors. This is also supported by several genetic rat models that display salt-sensitive hypertension and related target-organ damage as an inherited trait, thus representing an attractive substitute for the investigation of the polygenetic basis of the human disease. To explore the genetic basis underlying the progression of salt-sensitive cardiovascular and renal organ damage in spontaneous hypertension, two inbred genetic rat models, a salt-resistant spontaneously hypertensive rat (SHR) strain and the contrasting salt-sensitive hypertensive Dahl rat (SS), were studied. Both strains have comparable hypertensive blood pressure values on a low-salt diet but show a striking difference in their susceptibility to develop salt sensitivity and target organ damage. Phenotyping included the measurement of systolic blood pressure (SBP), left ventricular weight, aortic weight, albumin- and protein-excretion as well as histological examinations. The genome-wide linkage analysis in the F2-progeny (230 male animals) of SS and SHR yielded 6 quantitative trait loci (QTL) linked to SBP and 8, partially blood pressure independent, QTL with influence on cardiovascular and renal damage, respectively. The QTL on rat chromosomes (RNO) 1 and 19 represent, in addition to the blood pressure-linked QTL on RNO3, the first chromosomal candidate regions linked to both vascular and cardiac hypertrophy in this condition. Thus, in addition to blood pressure control, therapeutic intervention that aims to interfere with the genetic pathways of cardiovascular hypertrophy and renal damage seems possible to reduce the overall higher cardiovascular and renal risk observed in salt-sensitive hypertension. Therefore, a better understanding of the genetic mechanisms involved in the development of target organ damage in salt sensitive hypertension seems of clinical interest.