

4 Diskussion

Die individuelle Blutdruckhöhe resultiert aus dem variablen und äußerst komplexen Zusammenspiel zwischen Umwelt- und genetischen Faktoren. Eine wesentliche Einflussgröße auf die Höhe des Blutdruckes und bei der Entwicklung einer arteriellen Hypertonie stellt die Ernährung, insbesondere die Aufnahme von Kochsalz, dar. Derzeit ist wenig darüber bekannt, weshalb ein Teil der Patienten mit essentieller Hypertonie auf gesteigerte Kochsalzzufuhr mit zusätzlicher Blutdruckerhöhung und früherer Manifestation sowie stärkerer Progression blutdruckbedingter Endorganschäden reagiert. Letztgenannte wiederum führen zu deutlich gesteigerter kardiovaskulärer Morbidität und Mortalität. Durch die beobachtete familiäre Häufung wie auch das häufigere Auftreten in bestimmten Bevölkerungsgruppen werden Gene, die die Suszeptibilität gegenüber Salz, zumeist durch Regulierung der Salzausscheidung, beeinflussen, für dieses unterschiedliche Blutdruckverhalten verantwortlich gemacht (Weinberger, 1996; Lifton, 1996). Die Identifizierung der Gene, die im Zusammenhang mit essentieller arterieller Hypertonie zu verstärkter oder verminderter Salzempfindlichkeit führen, ist beim Menschen aufgrund seiner genetischen Heterogenität und uneinheitlichen Lebensbedingungen schwierig. Zu diesem Zweck macht man sich Tiermodelle, bei denen sowohl genetische - als auch Umweltfaktoren kontrollierbar sind, zunutze (Kreutz et al., 2002).

Unter den für salzsensitive Hypertonie entwickelten ingezüchteten Rattenstämmen zählt die von Dahl ursprünglich aus Sprague-Dawley-Ratten gezüchtete und von Rapp und Mitarbeitern weiter gezielt selektierte Dahl/SS/Jr-Ratte (Rapp & Dene, 1985) zu den am häufigsten verwendeten Tiermodellen zur Untersuchung der salzsensitiven Hypertonie. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die SHR/Mol und die Dahl/SS/Jr-Ratte als zwei Rattenmodelle für spontane Hypertonie, die sich aber im Hinblick auf ihre Salzsensitivität unterscheiden, phänotypisch charakterisiert. Die Identifizierung chromosomaler Regionen, die für die Entwicklung einer salzsensitiven Hypertonie und die Manifestation und Progression der hypertensiven Endorganschäden, insbesondere der kardiovaskulären Hypertrophie und der Nierenschädigung, verantwortlich sind, erfolgte durch Kosegregationsanalyse einer F2-Kreuzpaarungspopulation der beiden kontrastierenden Stämme.

4.1 Phänotypisierung der Parentalstämme

Sowohl die Validität der nicht-invasiven systolischen Blutdruckmessung mit der Tailcuff-Methode als auch die unter Normaldiät vergleichbare spontane Hypertonie der Parentalstämme konnten durch Gegenüberstellung mit den radiotelemetrisch erhobenen, invasiven Blutdruckdaten bestätigt werden. Die im Vergleich der Messmethoden bei beiden Stämmen geringfügig höheren Tailcuff-Blutdruckwerte waren durch den höheren Stressfaktor der Tiere bei dieser Methode erklärbar. Zur Messung der Blutdruckunterschiede innerhalb der F2-Population im Rahmen der Kosegregationsstudie erwies sich die Tailcuff-Methode als geeignete und verlässliche Alternative zur Radiotelemetrie.

Da für die Beurteilung der Blutdruckwerte bei Ratten ähnliche Werte wie beim Menschen herangezogen werden können, befand sich der unter Niedrigsalzbedingungen (0,2 % NaCl) gemessene Blutdruck der SHR/Mol-Ratte als Ausdruck der spontanen Hypertonie mit Werten von 161,6 mmHg im hypertensiven Bereich. Unter Salzbelastung mit 4 % NaCl zeigte er jedoch mit Werten von 168,9 mmHg keine nennenswerte Änderung. Die als Maß der renalen Schädigung ermittelte UAE beträgt bei nierengesunden Ratten unter 1 mg/24h, beim Menschen gilt ein Wert unter 30 mg/24h als physiologisch. Bei den SHR/Mol-Männchen lag sie sowohl unter Normal- als auch unter Salzdiät mit Werten um 1 mg/24h im gesunden bzw. allenfalls leicht erhöhten Bereich. Damit standen diese Ergebnisse im Einklang mit den Befunden früherer Untersuchungen der Arbeitsgruppe, die zeigten, dass die SHR/Mol-Ratte sogar nach unilateraler Nephrektomie in der Lage war, den Blutdruck sowie die UAE unveränderlich zu halten (Rothermund et al., 2001). Als ebenfalls Diät-unabhängig konstant erwies sich das relative linksventrikuläre Gewicht (2,56 mg/g vs. 2,58 mg/g) als Parameter der kardialen Hypertrophie. Auf vaskulärer Ebene war nach Salzbelastung eine mit der Dahl/SS/Jr-Ratte vergleichbare Zunahme des relativen Aortengewichtes zu verzeichnen, das Ausmaß der Gefäßschädigung war allerdings sowohl im Vergleich der Normalfutter-Gruppen (9,1 mg/cm vs. 13,4 mg/cm) als auch im Vergleich der Salzfutter-Gruppen (12,6 mg/cm vs. 16,7 mg/cm) bei der Dahl/SS/Jr-Ratte signifikant stärker ausgeprägt. Anhand dieser Untersuchungsergebnisse wird die SHR/Mol-Ratte als ein Tiermodell mit salzresistenter, spontaner Hypertonie und kaum ausgeprägten hypertensiven Endorganschäden charakterisiert.

Die hypertensiven Blutdruckwerte der Dahl/SS/Jr-Ratte wiesen unter Normaldiät mit Werten von 171,4 mmHg ähnliche Werte wie die SHR/Mol-Ratte auf, stiegen aber, im

Gegensatz zur SHR/Mol-Ratte unter Salzbelastung als Ausdruck der Salzsensitivität signifikant und deutlich auf Werte von 243,3 mmHg an. Darüber hinaus führte die erhöhte Salzzufuhr zu einer mit Werten von 260,4 mg/24h signifikant erhöhten UAE und damit zur verstärkten Progression der sich bereits unter Normaldiät mit Albuminurie-Werten von 120,3 mg/24h manifestierenden renalen Schädigung. Zugleich war das beschleunigte Fortschreiten pathologischer Veränderungen nach Salzbelastung auch auf kardiovaskulärer Ebene durch eine signifikant erhöhte linksventrikuläre und aortale Hypertrophie zu verzeichnen. Histologisch wurden im Vergleich zur SHR/Mol-Ratte, die auch unter Salzdiät keine auffälligen Veränderungen fibrotischer und/oder sklerotischer Art zeigte, bei der Dahl/SS/Jr-Ratte bereits unter Normaldiät, also bei vergleichbaren Blutdrücken, deutliche Veränderungen sowohl in der Niere als auch im Herzen gefunden, die sich unter Salzbelastung nochmals verstärkten. Damit bestätigten diese Befunde Studien von Karlsen und Mitarbeitern, die in einer Hochsalzstudie bei SHR histologisch eine im wesentlichen gesunde Nierenstruktur vorfanden, während bei den untersuchten Dahl/SS/Jr-Ratten deutliche pathologische Veränderungen zu erkennen waren (Karlsen et al., 1997). Gleichzeitig charakterisieren die Untersuchungsergebnisse die Dahl/SS/Jr-Ratte als ein Tiermodell mit spontaner, salzsensitiver Hypertonie und deutlich ausgeprägten Endorganschäden.

Ausgangspunkt für die Durchführung einer Kosegregationsstudie stellte die vergleichbare spontane Hypertonie beider Parentalstämme in Kombination mit ihrer unterschiedlichen Empfindlichkeit gegenüber salzbedingten Endorganschäden dar. Ziel der Studie war es, durch exakte Analyse der Phäno- und Genotypen einer F2-Generation aus beiden Stämmen genetische Faktoren zu identifizieren, die in Verbindung mit erhöhter Salzzufuhr zu Endorganschäden bei Hypertonie führen.

4.2 Kosegregationsanalyse

4.2.1 Blutdruck

Ausgehend von männlichen Dahl/SS/Jr-Ratten und weiblichen SHR/Mol-Ratten erfolgte über Bruder-Schwester-Verpaarungen der F1-Generation die Etablierung der 230 männliche Tiere umfassenden F2-Population. Nach 8-wöchiger Salzbelastung mit 4 % NaCl wurde in der 15. Lebenswoche ein mittlerer systolischer Blutdruck von 194 mmHg gemessen, wobei die Verteilung der sich erwartungsgemäß zwischen 150 und 268 mmHg bewegenden Einzelwerte unimodal, leicht zu niedrigeren Werten verschoben war. Die kontinuierliche, von niedrigen zu hohen Werten, variierende Ver-

teilung der Blutdruckwerte beruht auf Umwelt- oder genetischen Faktoren oder Wechselwirkungen beider Faktoren untereinander. Diese natürliche Variation kennzeichnet den Blutdruck als quantitatives Merkmal, dessen genetische Ursache zumeist polygen, d.h. das Resultat kumulativer Effekte verschiedener genetischer Faktoren ist. Loci mit Einfluss auf ein quantitatives Merkmal, sog. Quantitative Trait Loci (QTL), beschreiben eine relativ große chromosomale Region, in der es wahrscheinlich ist, dass sich ein oder mehrere das Merkmal beeinflussende Gene befinden (Rapp, 2000).

Die in der untersuchten F₂-Population für das gesamte Genom, mit Ausnahme des Y-Chromosoms, durchgeführte genomweite Kopplungsanalyse bestätigte den Einfluss mehrerer genetischer Komponenten auf die Regulierung des Blutdruckes. Mindestens sechs QTL auf den RNO 1, 3, 4, 6, 9 und 11 greifen in die Blutdruckregulation ein. Von diesen sechs Loci wies der auf RNO 9 detektierte QTL mit einer Blutdruckdifferenz von 20,9 mmHg zwischen den für das Dahl/SS/Jr-Allel homozygoten und den für das SHR/Mol-Allel homozygoten Tieren den stärksten Blutdruckeffekt auf. Damit ist er für 11,5 % der gesamten Blutdruckvarianz verantwortlich. Berücksichtigt man die Effekte aller sechs QTL, so werden ~ 47 % der Blutdruckvarianz durch sie erklärt. Interessanterweise kosegregiert bei den QTL auf RNO 3, 6 und 11 das SHR/Mol-Allel mit dem blutdruckerhöhenden Effekt. Der Blutdrucklocus am proximalen Ende von RNO 3 wurde bereits von Cicila und Garrett in verschiedenen Kreuzungen mit Dahl-Ratten beschrieben (Garrett et al., 1998; Cicila et al., 1999; Garrett et al., 2000). Auch in Kreuzungen von SHRSP mit Wistar-Kyoto-Ratten scheint ein QTL auf RNO 3 an der Blutdruckregulation beteiligt zu sein; die genaue Lokalisation ist allerdings aufgrund der zum damaligen Zeitpunkt noch recht groben Chromosomenkarten relativ schwer zu bestimmen (Clark et al., 1996). Garrett und Mitarbeiter, die in der oben erwähnten Studie ebenfalls eine F₂-Population aus SHR und Dahl/SS/Jr-Ratten untersuchten, konnten neben den in der vorliegenden Arbeit gefundenen, übereinstimmenden QTL auf RNO 3 und 9 einen weiteren QTL auf RNO 8 detektieren. Als Ursache für die trotz gleicher Ausgangsstämme partiell verschiedenen Ergebnisse kommt einerseits das unterschiedliche Studiendesign hinsichtlich Dauer und Höhe der Salzbelastung in Frage. Nicht zuletzt müssen aber andererseits auch die geringfügigen genetischen Unterschiede zwischen den einzelnen ingezüchteten SHR-Stämmen, die durch vorzeitige Marktverfügbarkeit von SHR-Ratten vor Etablierung eines vollständig ingezüchteten Stammes hervorgerufen wurden, berücksichtigt werden. In einer weiteren Studie von Garrett, die als kontrastierenden Rattenstamm zur Dahl/SS/Jr-Ratte die Albino Surgery-Ratte verwendete, wurde neben QTL auf RNO 2 und 8 auch auf RNO 4 eine

Region mit Einfluss auf den Blutdruck identifiziert (Garrett et al., 2002). Der Peakmarker dieses QTL befindet sich dabei in unmittelbarer Nachbarschaft zum Peakmarker des im Rahmen dieser Arbeit auf RNO 4 gefundenen Blutdruck-QTL, die Konfidenzintervalle beider QTL zeigen Überlappungen. In Anbetracht der methodisch bedingten relativ groben Lokalisierung von QTL sowie der Verwendung unterschiedlicher Marker, scheint es sich um denselben Blutdruck-QTL zu handeln. Die auf RNO 6 und 11 identifizierten QTL der vorliegenden Untersuchungen stellen bisher noch nicht in der Literatur beschriebene Blutdruck-QTL dar. Bezieht man die Ergebnisse aller bisher an salzsensitiven Dahl-Ratten durchgeführten Studien zur Identifizierung blutdruckbeeinflussender QTL ein, so wird die Höhe des Blutdruckes bei der salzsensitiven Dahl-Ratte, zuzüglich der im Rahmen dieser Studie neu gefundenen QTL auf RNO 6 und 11, durch Interaktion von mindestens 18 verschiedenen QTL beeinflusst (Garrett et al., 2002).

4.2.2 Hochdruckassoziierte Endorganschäden

Zu den pathologisch bedeutenden Folgen eines chronisch erhöhten Blutdruckes zählen Herz- und Gefäßhypertrophie, Schlaganfall und Nierenschäden. Darin begründet ist die Vermutung einer Kolo-kalisation von Blutdruck-QTL mit den zu hochdruckassoziierten Endorganschäden führenden genetischen Faktoren. Aber auch blutdruckunabhängige genetische Faktoren, die die Empfindlichkeit gegenüber den durch Hypertonie hervorgerufenen Organschäden verändern, sind denkbar. In der vorliegenden Arbeit lag der Fokus auf den durch salzsensitive Hypertonie bedingten renalen und kardiovaskulären Endorganschäden.

4.2.2.1 Niere

Zur Identifizierung der genetischen Ursachen für die bei den Dahl/SS/Jr-Parentaltieren unter Salzsensitivität extrem ansteigende UAE wurden nach 8-wöchiger Salzbelastung bei allen Tieren der F2-Population die UAE und UPE im 24h-Urin bestimmt. Das Gesamtspektrum der zwischen 0,31 und 288,0 mg/24h liegenden Albuminwerte korrelierte mit den kontrastierenden Befunden der Parentalstämme, wobei die durchschnittliche UAE mit 19,5 mg/24h unerwartet deutlich unter den Werten der salzbelasteten Dahl/SS/Jr-Ratten lag, die im Mittel 260,4 mg Albumin pro Tag mit dem Urin ausschieden. Bei 152, und damit zwei Dritteln der Tiere wurden Albuminwerte im physiologischen bzw. mäßig erhöhten Bereich zwischen 0,31 und 9,9 mg/24h gemessen. Lediglich 5,2 % (12 Tiere) der insgesamt 230 Tiere wiesen deutlich pathologische Werte im dreistelligen Milligramm-Bereich (115,2 – 288,0 mg/24h) auf. Das ebenso bei

der Proteinurie beobachtete Verteilungsmuster deutet daher auf den in aktuellen Untersuchungen der Arbeitsgruppe und in der Literatur beschriebenen, rezessiven Vererbungsmodus dieser Phänotypen hin (Schulz et al., 2002; Murayama et al., 1998; Garrett et al., 2003).

Die für das gesamte Genom bis auf das Y-Chromosom durchgeführte Linkage-Analyse identifizierte sechs QTL mit Einfluss auf Albuminurie und/oder Proteinurie: Zwei QTL auf RNO 6 und vier weitere auf RNO 3, 8, 9 und 19 sowie möglicherweise einen weiteren auf RNO 2. Dabei konnte bei drei der sechs Loci, dem Proteinurie-Locus auf RNO 3, dem Albuminurie- / Proteinurie-Locus am proximalen Ende von RNO 6 sowie dem Albuminurie-Locus auf RNO 9 eine Kolo-kalisation zu den auf den entsprechenden Chromosomen gefundenen Blutdruck-QTL nachgewiesen werden. Analog den Blutdruckbefunden war auch hier auf RNO 3 und 6 das SHR/Mol-Allel, auf RNO 9 das Dahl/SS/Jr-Allel mit dem krankheitsfördernden Effekt verbunden. 15,2 % der Albuminurie- und 22,1 % der Proteinurievarianz waren folglich durch Blutdruckeinflüsse erklärbar. Als scheinbar blutdruckunabhängig reguliert zeigten sich dagegen die auf den RNO 2, 8 und 19 detektierten QTL, bei denen bis auf RNO 8, bei dem keine eindeutige Aussage möglich war, die suszeptiblen Eigenschaften vom Dahl/SS/Jr-Allel ausgingen. Die genotypabhängige Analyse der Phänotypausprägung am jeweiligen Peakmarker ergab neben den erwarteten rezessiven genetischen Effekten auch kodominante oder sogar dominante Effekte des jeweiligen krankheitsfördernden Allels und steht damit sowohl im Gegensatz zu der anhand der oben erwähnten Häufigkeitsverteilung angestellten Vermutung einer rezessiven Vererbung als auch zu Ergebnissen bisheriger tierexperimenteller und humaner Studien (Murayama et al., 1998; Shiozawa et al., 2000; Schulz et al., 2002; Garrett et al., 2003; Poyan Mehr et al., 2003; Fogarty et al., 2000a; Fogarty et al., 2000b) Eine Studie der Arbeitsgruppe, deren Ziel die Aufklärung der für das salzunabhängige, frühzeitige Auftreten einer Albuminurie bei Dahl/SS/Jr-Ratten verantwortlichen genetischen Faktoren war, untersuchte ebenfalls F₂-Tiere einer Kreuzung aus SHR/Mol und Dahl/SS/Jr-Ratte. Die Analyse der im Alter von 8 Wochen phäno- und genotypisch charakterisierten jungen Ratten führte zur Identifizierung von sieben Albuminurie-QTL (Poyan Mehr et al., 2003). Die auf RNO 2, 8, 9 und 19 detektierten QTL und der am distalen Ende von RNO 6 liegende QTL entsprechen den in der vorliegenden Arbeit gefundenen QTL oder weisen Überlappungen auf, wobei der QTL auf RNO 6, bei den Salztieren mit einem LOD-Score von 2,78 kaum relevant, deutlich signifikant und wesentlich stärker ausgeprägt war. Im Gegensatz zur Studie von Poyan Mehr et al. konnten innerhalb der vorliegenden Salzbe-

lastungsstudie für RNO 10 und 11 keine nennenswerten genetischen Effekte beobachtet werden. Demnach scheinen in das frühe Auftreten einer Albuminurie und die Progression der renalen Schädigung unter Salzbelastung verschiedene Gen-Kombinationen bei der salzsensitiven Dahl-Ratte involviert zu sein. In der bereits oben erwähnten kürzlich veröffentlichten Studie von Garrett und Mitarbeitern bestimmten diese in einer unter Normalfutter (0,3 % NaCl) gehaltenen Backcross-Population aus SHR und Dahl/SS/Jr-Ratte die UAE und UPE zu unterschiedlichen Alterszeitpunkten. Der im Anschluss daran durchgeführte Genom-Screen identifizierte zwei Albuminurie- / Proteinurie-QTL auf RNO 6 sowie acht weitere auf RNO 1, 2, 8, 9, 10, 11, 13 und 19. Die meisten der gefundenen QTL waren entweder bereits zum frühesten untersuchten Zeitpunkt in der 8. Lebenswoche nachweisbar oder verstärkten sich im Laufe der Zeit (Garrett et al., 2003). Im Vergleich zu den im Rahmen der vorliegenden Arbeit identifizierten Albuminurie- / Proteinurie-QTL konnten die in identischen chromosomalen Regionen liegenden QTL der RNO 2, 6, 8, 9 und 19 bestätigt oder eine unmittelbar benachbarte Kollokalisierung nachgewiesen werden. Wie schon erwähnt, erreichte der im Bereich des von Garrett detektierten QTL 2 auf RNO 6 liegende QTL mit 2,78, allerdings lediglich schwach wahrscheinliche LOD-Score-Werte. Mit Ausnahme der von Garrett beschriebenen QTL auf RNO 1 und 11 in deren Region mit LOD-Score-Werten um 2,3 eine leichte Tendenz zu wahrscheinlicher Kopplung mit Albuminurie bzw. Proteinurie erkennbar war, scheinen die QTL auf RNO 10 und 13 für die progressive Nierenschädigung nach Salzbelastung keine Rolle zu spielen.

Die Ergebnisse unterstreichen die enorme Bedeutung genetischer Interaktionen untereinander und mit unterschiedlichen Umweltfaktoren, insbesondere des Salzgehaltes der Nahrung, sowie die Relevanz altersabhängiger Gen-Aktivierungs- und -Inaktivierungsmechanismen („Age of onset-Effekte“). Durch die offensichtliche Beteiligung vieler verschiedener Gene mit mehr oder weniger stark ausgeprägten Effekten lässt sich in der Gesamtschau der bislang veröffentlichten Befunde sowohl für die Albuminurie als auch für die Proteinurie ein hoch polygenetisches Vererbungsmuster sowie nicht selten das Fehlen einer Kollokalisierung zu Blutdruck-QTL feststellen. Im Gegensatz zu bisherigen tierexperimentellen und humanen Studien, in denen ausschließlich ein rezessiver Vererbungsgang beobachtet wurde, konnten auch kodominante und dominante genetische Allel-Effekte mit Einfluss auf das Ausmaß der Albuminurie und Proteinurie nachgewiesen werden.

4.2.2.2 Herz und Gefäße

Im Vergleich zur normotensiven Bevölkerung ist die LVH-Prävalenz bei Hypertonikern erhöht. In Abhängigkeit von der ethnischen Zugehörigkeit variierend, weist jeder zweite bis vierte Hochdruckpatient (22 – 60 %) ein erhöhtes linksventrikuläres Gewicht auf (Liebson et al., 1993; Houghton et al., 1997). Obwohl Hypertonie durch die erhöhte hämodynamische Belastung einen bedeutenden Faktor für die Entwicklung einer kardiovaskulären Hypertrophie darstellt, kann das Ausmaß der Hypertrophie bei vergleichbaren Blutdrücken erheblich variieren oder im Extremfall gar nicht vorhanden sein (Frohlich et al., 1979; Kuroda et al., 1991; Palmieri et al., 1999; Swynghedauw 1999). Infolgedessen ist lediglich ein kleiner Teil der interindividuellen Variabilität durch einen erhöhten Blutdruck erklärbar. Der Nachweis des Einflusses blutdruckunabhängiger genetischer Faktoren auf die Variabilität des Herzgewichtes wurde sowohl durch experimentelle als auch klinische Studien erbracht (Tanase et al., 1982; Verhaaren et al., 1991; Post et al., 1997; Sebkhi et al., 1999; Harrap et al., 2002). Des Weiteren wurden sowohl für die kardiale als auch die vaskuläre Hypertrophie durch erhöhte Salzaufnahme hervorgerufene, blutdruckunabhängige Mechanismen nachgewiesen (Lindpaintner et al., 1985; Messerli et al., 1997; Safar et al., 2000). Linkage-Studien an Kreuzungen zwischen normotensiven und hypertensiven Rattenstämmen führten zur Identifizierung von insgesamt fünf QTL mit Einfluss auf das Herzgewicht auf RNO 2, 12, 14, 17 und X (Pravenec et al., 1995; Hamet et al., 1996; Vincent et al., 1996; Clark et al., 1996; Innes et al., 1998). Dass auch die Determinierung der Gefäßstruktur und -funktion sowie die Gefäßwanddicke einer genetischen Beeinflussung beim Menschen unterliegen, konnten North und Mitarbeiter in einer kürzlich veröffentlichten klinischen Studie zeigen (North et al., 2002). Ähnliche Ergebnisse aus Linkage-Studien wie für das Herzgewicht existieren für die zu Gefäßhypertrophie führenden genetischen Faktoren allerdings derzeit nicht. Die vorliegende Arbeit ist daher die erste Studie, deren Ziel die Identifizierung genetischer Faktoren mit Einfluss auf die Gefäßhypertrophie bei salzsensitiver Hypertonie war.

Ausgehend von den Ergebnissen der Parentaltierstudien lagen sowohl die LVH als auch die AOH der F2-Tiere mit Werten zwischen 2,13 und 5,09 mg/g bzw. 9,00 und 23,20 mg/cm im erwarteten Bereich. Die Korrelationsanalyse ergab für die LVH-Varianz einen Blutdruckeinfluss von 28,1 %, an der AOH-Varianz scheint der systolische Blutdruck zu 18,4 % beteiligt zu sein.

Die im Anschluss an die Phäno- und Genotypisierung durchgeführte statistische Analyse offenbarte für die LVH vier QTL auf den RNO 1, 3, 9 und 19 sowie drei mögliche QTL auf RNO 4, 6 und 11. Für die AOH konnten drei QTL, ebenfalls auf RNO 1, 3 und 19 sowie möglicherweise ein weiterer auf RNO 6 gefunden werden. Auffallend war dabei die für alle gemeinsamen Chromosomen festgestellte Überlappung oder unmittelbare Kolokalisation der LVH- und AOH-QTL. Für das relative Gesamtgewicht ergab sich auf RNO 11 ein mit einem LOD-Score von 2,83 knapp über dem Grenzwert für wahrscheinliche Kopplung liegender QTL, der für die LVH allerdings nicht erreicht wurde. Wie erwartet stammte das krankheitsfördernde Allel bei den QTL der RNO 1, 9 und 19 aus dem Dahl/SS/Jr-Genom, wohingegen die in der QTL-Region von RNO 3 für das SHR/Mol-Allel homozygoten Tiere den pathologischeren Phänotyp aufwiesen. Dieser Gen-Locus wurde dabei erst durch den Ersatz der neutralen oder protektiven Dahl/SS/Jr-Allele durch entweder krankheitsfördernde oder neutrale Allele des SHR/Mol-Stammes im Zuge der F2-Kreuzung nachweisbar. Einerseits scheint ein, die Dahl/SS/Jr-Ratte vor weiterer kardiovaskulärer Schädigung schützender genetischer Faktor in Frage zu kommen, andererseits kann es sich auch um einen im Genom der SHR/Mol-Parentaltiere normalerweise maskierten zur Herz- und Gefäßschädigung führenden Faktor der SHR/Mol-Ratte handeln. Konsekutiv kommt es zur Zunahme des Ungleichgewichts zwischen protektiven und krankheitsfördernden Mechanismen vor allem bei den F2-Tieren, die im Bereich der QTL auf RNO 1, 9 und 19 einen hohen Anteil an Dahl/SS/Jr-Genom aufweisen. Ähnliche Befunde konnten für RNO 3 bereits für die in derselben chromosomalen Region liegenden Blutdruck- und Proteinurie-QTL erhoben werden. Im Gegensatz zu der für RNO 3, 9 und 11 beobachteten Kolokalisation mit dem systolischen Blutdruck, scheinen die Effekte der QTL auf RNO 1 und 19 blutdruckunabhängig zu sein und wären infolgedessen im Rahmen konventioneller Blutdruck-QTL-Mapping-Studien nicht erfasst worden. Zusätzliche statistische Analysen ergaben trotz fehlender genetischer Kopplung zu Blutdruck-QTL eine positive Korrelation zwischen dem systolischen Blutdruck und dem Ausmaß der LVH und AOH. Damit setzt sich die zwischen LVH und AOH beobachtete starke Korrelation ($r = 0,58$) aus den für beide Phänotypen identifizierten, gemeinsamen QTL und dem als Triebkraft für die Entwicklung einer kardiovaskulären Hypertrophie bekannten Bluthochdruckeffekten zusammen. Neben den oben erwähnten literaturbekannten QTL auf RNO 2, 12, 14, 17 und X, identifizierten Garrett und Mitarbeiter in der bereits unter 4.2.2.1 genannten Studie QTL für das relative Herzgewicht auf RNO 1, 8 und 9 (Garrett et al., 2003). Während der von Garrett detektierte QTL auf RNO 9 mit dem im Rahmen

der vorliegenden Arbeit auf demselben Chromosom gefundenen QTL Überlappungen aufweist, liegen die QTL auf RNO 1 in unterschiedlichen genetischen Regionen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Garrett waren auf RNO 8 keine genetischen Einflüsse, weder auf das linksventrikuläre Gewicht, noch auf das Gesamtherzgewicht zu verzeichnen.

Zusammenfassend konnten für die bei salzsensitiver Hypertonie verstärkt auftretenden Endorganschäden am Herzen und den Gefäßen drei chromosomale Regionen mit Einfluss auf die kardiovaskuläre Hypertrophie und zwei die kardiale Hypertrophie beeinflussende QTL identifiziert werden. Durch sie können ~ 40 % der LVH-Varianz und ~ 30 % der AOH-Varianz erklärt werden. Die für beide Phänotypen gefundenen blutdruckunabhängigen QTL auf RNO 1 und 19, ebenso wie der mit dem Blutdruck kolo-kalisierende QTL auf RNO 3 stellen die ersten chromosomalen Kandidatengenregionen für sowohl kardiale als auch vaskuläre Hypertrophie dar. Aufgrund der beobachteten Überlappungen und Kolo-kalisationen der QTL für LVH und AOH und unter Berücksichtigung der mit der QTL-Mapping-Methode nicht erreichbaren exakten Positionierung, scheint es möglich, dass in die Entwicklung der kardiovaskulären Hypertrophie im linken Ventrikel und in der Aorta identische genetische Faktoren involviert sind. Unterstützt wird diese Hypothese durch die starke Korrelation beider Phänotypen.

4.2.3 Interpretation der Kopplungsanalyse

Kopplungsanalysen in segregierenden Populationen ermöglichen das Auffinden von QTL – chromosomalen Regionen, in denen sich ein oder mehrere Gene mit Einfluss auf den untersuchten Phänotyp befinden. Anhand der oben erwähnten teilweise unterschiedlichen Ergebnisse verschiedener Studien wird deutlich, dass die Identifizierung von QTL von vielen Faktoren, wie den verwendeten Parentalstämmen sowie den einzelnen Studienbedingungen (Untersuchungszeitpunkt – Alter der Tiere, Zusammensetzung des Futters, operative Eingriffe, etc.) abhängt. Eine zusätzliche Schwierigkeit, QTL statistisch signifikant zu identifizieren, ergibt sich durch die mögliche Aufhebung einzelner phänotypischer Effekte verschiedener QTL infolge der zufälligen, voneinander unabhängigen Rekombination der Allele. Wird dadurch beispielsweise ein geringer Allel-Effekt auf die Phänotyp-Ausprägung zusätzlich maskiert, erhöht sich die Wahrscheinlichkeit, dass diese chromosomale Region nicht als QTL detektiert wird. Derselben gilt für unmittelbar benachbarte QTL, deren Allele gegensätzliche, sich aufhebende Auswirkungen auf den Phänotyp haben. Umgekehrt kann, sofern die Allele direkt benachbarter QTL gleichgerichtete Wirkungen auf den Phänotyp entfalten, der

LOD-Score-Plot entweder in einem gemeinsamen Peak oder einem breiten Plateau resultieren (Rapp, 2000). Der Verlauf der LOD-Score-Plots für die UAE und UPE auf RNO 19 könnte die Situation eines Plateaus mit drei schwach angedeuteten Peaks widerspiegeln (Abb. 30). Da sich die LOD-Score-Werte für das relative linksventrikuläre Gewicht auf RNO 19 nahezu auf dem gesamten Chromosom oberhalb des Signifikanzniveaus für wahrscheinliche Kopplung bewegen, kann auch hier die Möglichkeit einer Plateaubildung mit stärkerer Peak-Tendenz im oberen und unteren Bereich des Chromosoms in Betracht gezogen werden (Abb. 28). Ein weiteres Beispiel für ein über eine große Distanz reichendes Plateau sind die LOD-Score-Plots für den systolischen Blutdruck und das relative linksventrikuläre Gewicht auf RNO 11 (Abb. 27). Für die genannten Parameter scheinen auf den jeweiligen Chromosomen also mehrere QTL relevant zu sein.

Beträgt die Entfernung zweier gleichgerichteter QTL mehr als 80 cM, können zwei Peaks im LOD-Score-Plot beobachtet werden (Rapp, 2000). Ein Beispiel hierfür stellt der LOD-Score-Plot für die UAE auf RNO 6 dar (Abb. 34). Aufgrund der fehlenden 80 cM-Distanz hinsichtlich Anzahl und Lokalisation von QTL schwer zu interpretierend sind beispielsweise die LOD-Score-Plots für das relative Aortengewicht auf RNO 1 und 3, ebenso wie die LOD-Score-Plots für das relative linksventrikuläre Gewicht auf RNO 3 und der UPE auf RNO 2 und 3 (Abb. 22, Abb. 24, Abb. 32, Abb. 38). Auch für die in Abb. 26 und Abb. 36 für RNO 4 (systolischer Blutdruck und relatives linksventrikuläres Gewicht) und RNO 8 (UAE und UPE) dargestellten LOD-Score-Plots ist die Frage nach der QTL-Anzahl und -Lokalisation nicht eindeutig zu beantworten.

Ist eine Markerregion mit Einfluss auf den Phänotyp gefunden worden, gibt der maximale LOD-Score einen Anhaltspunkt für die wahrscheinlichste Lokalisation des QTL. Zur Eingrenzung des Bereiches, innerhalb dessen sich der QTL befindet, macht man sich Konfidenzintervalle zunutze. Die Wahrscheinlichkeit, mit der sich ein QTL im 1-LOD-Intervall bzw. 95 %-Konfidenzintervall befindet, beträgt 60-95 %. Für QTL mit mäßigem Einfluss auf den Phänotyp reicht das 1-LOD-Intervall nicht aus, so dass das 2-LOD-Intervall herangezogen werden sollte. Die Länge des Konfidenzintervalls ist dabei abhängig von der Größe der Studienpopulation, dem Ausmaß des QTL-Effektes auf den Phänotyp sowie der Markerdichte. Da der Phänotyp-Einfluss bei den meisten bisher detektierten QTL mit einem Anteil von 5 - 15 % an der Gesamtvarianz eher moderat ist, stellt, von einer Markerdichte zwischen 5 - 10 cM ausgehend, ein ca. 20 - 35 cM breites Intervall die maximal mögliche Einengung auf einen bestimmten chromosomalen Bereich dar. Diesen ca. 4×10^7 – 7×10^7 - Basenpaare bzw. 1000 – 1750 Gene

enthaltenden und daher für die Anwendung des positionellen Klonierens zu großen DNA-Abschnitt, versucht man über die Züchtung und anschließende Phänotypisierung kongener Stämme und Unterstämme weiter einzuengen.

4.3 Kolokalisationen krankheitsrelevanter Kandidatengene

Parallel zur Züchtung kongener Stämme wurden die in das Blutdruckgeschehen und die Entwicklung von hypertensiven Endorganschäden eingreifenden bekannten physiologischen Systeme hinsichtlich der chromosomalen Lokalisation ihrer Komponenten und möglicher Kolokalisationen zu den innerhalb der vorliegenden Arbeit identifizierten QTL analysiert.

Dem Renin-Angiotensin-Aldosteron System (RAAS) kommt bei der Aufrechterhaltung der hämodynamischen Stabilität durch direkte und indirekte Effekte auf zahlreiche Organsysteme essentielle Bedeutung zu. Zusätzlich zur Beeinflussung der Hämodynamik spielt das RAAS über trophische, inflammatorische und oxidative Effekte eine Rolle bei der Atheroskleroseprogression und der Entwicklung einer linksventrikulären Hypertrophie (Perazella et al., 2003; O'Keefe et al., 2003). Die pathophysiologischen Effekte eines überstimulierten RAAS werden zum überwiegenden Teil durch Bindung des durch enzymatische Spaltung über Angiotensin I aus Angiotensinogen gebildeten Angiotensin II an den Angiotensin Typ 1-Rezeptor (AT1) hervorgerufen. Neben dem bekannten vasokonstriktorisches Effekt führt die Bindung an den AT1-Rezeptor zu Zellproliferation und Gewebe-Remodeling. Bewirkt werden diese Prozesse über die Interaktion von Angiotensin II mit verschiedenen Reaktionskaskaden und die Stimulation von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, beispielsweise TGF- β , PDGF und nuclear factor κ B (Wolf, 2000; Luft, 2002). In diesem Zusammenhang gelten zum einen das sich in Kolokalisation zum LVH-QTL auf RNO 19 befindende Angiotensinogen-Gen (Agt), zum anderen das für den AT1-Rezeptor kartierende Gen *Agtr1* im unmittelbaren Grenzbereich des 2-LOD-Intervalls der UAE und UPE auf RNO 2 als interessante Kandidatengene.

Die wesentlichen biologischen Effekte von Aldosteron kommen durch Bindung an den Mineralocorticoid-Rezeptor zustande - das aus der Nebennierenrinde stammende Steroid besitzt vielfältige Effekte auf das kardiovaskuläre System: Zusammen mit dem Renin-Angiotensin-System ist es in die renal vermittelte Regulation des Salz- und Wasserhaushaltes involviert, darüber hinaus scheint Aldosteron aber auch bei krankhaften Veränderungen von Herz- und Nierengewebe über direkte kardiale und vaskuläre

Effekte eine Rolle zu spielen (Swedberg et al., 1990; Duprez et al., 1993; Qin et al., 2003; Blasi et al., 2003). Aufgrund ihrer chromosomalen Lage in Kolokalisation zu den innerhalb der Kosegregationsanalyse auf RNO 19 und RNO 8 identifizierten QTL für LVH, UAE bzw. UPE kommen sowohl das für den Mineralocorticoid-Rezeptor (Nr3c2) kodierende Gen als auch die für die Aldosteronsynthese essentielle Cholesterol Desmolase (Cyp11a) als potentielle Kandidatengene in Frage.

Die Bedeutung des sympathischen Nervensystems (SNS) in der akuten Blutdruckregulation ist zweifellos akzeptiert. Obwohl sowohl bei der Pathogenese der essentiellen Hypertonie als auch bei der Entwicklung von kardiovaskulären und renalen hypertensiven Endorganschäden von einer langfristigen Beteiligung des SNS ausgegangen wird, sind die exakten pathophysiologischen Mechanismen derzeit ungeklärt. Grundlage für die Annahme einer veränderten SNS-Aktivität bei arterieller Hypertonie sind Studienergebnisse, die bei ~ 30 % der Patienten mit essentieller Hypertonie erhöhte Plasma-Katecholamin-Spiegel feststellten (Engelman et al., 1970; DeQuattro & Chan, 1972). Als mögliche langfristige Effekte werden eine antinatriuretische und Renin-stimulierende Wirkung, Einflüsse auf die Gefäßmembran-Struktur sowie trophische Effekte auf die Gefäße und das Herz diskutiert (Mark, 1996). In Anbetracht dessen sollten alle Komponenten des SNS, für die Kolokalisationen zu QTL der vorliegenden Arbeit festgestellt wurden oder wahrscheinlich sind, bei der Kandidatengenanalyse vorrangig berücksichtigt werden. In diesem Fall betrifft das die für die Adrenalin- bzw. Noradrenalin-Synthese essentiellen Enzyme Tyrosinhydroxylase (Th) und Dopamin- β -hydroxylase (Dbh) sowie den β_1 -Adrenozeptor (Adrb1), für die Kolokalisationen zur LVH und/oder AOH bzw. zum systolischen Blutdruck auf RNO 1 und RNO 3 nachweisbar waren oder als wahrscheinlich angenommen werden. Ein weiteres potentielles Kandidatengen stellt die Catecholamin-O-Methyltransferase (Comt) dar, für die eine Kolokalisation zum systolischen Blutdruck auf RNO 11 als wahrscheinlich gilt.

Der potenteste derzeit bekannte Vasokonstriktor Endothelin-1 (ET-1) zählt zum Endothelin-System (ETS). Die Effekte des hauptsächlich im Gefäßsystem, aber auch im Herzen, der Niere, dem ZNS und im Hypophysenhinterlappen gebildeten ET-1 werden durch Bindung an den in glatten Gefäßmuskelzellen vorkommenden ET_A- und/oder den in glatten Gefäßmuskel- und Endothelzellen vorkommenden ET_B-Rezeptor bewirkt. Während die Bindung an den ET_B-Rezeptor der Endothelzellen über die Freisetzung von NO und Prostacyclin zu Vasodilatation führt, werden durch Bindung an den ET_A- und ET_B-Rezeptor der glatten Gefäßmuskelzellen vasokonstriktorische, proliferative und hypertrophe Effekte ausgelöst. Darüber hinaus spielt ET-1 auch bei lang-

fristigen adaptiven Mechanismen wie Gefäß-Remodeling und Angiogenese eine Rolle. Über die Stimulation des SNS und des RAAS greift ET-1 des Weiteren in die Regulierung des Salz- und Wasserhaushaltes ein. Alle genannten Eigenschaften begründen ET-1 und damit das ETS als bedeutendes System bei der Entstehung und Vermittlung der Hypertonie und hypertoniebedingten Endorganschäden (Agapitov et al., 2002; Iglarz et al., 2003). Vor diesem Hintergrund stellt das ET_A-Rezeptor-Gen auf RNO 19 mit seiner Lage innerhalb des 1-LOD-Intervalls der UAE und UPE, innerhalb des 2-LOD-Intervalls der LVH sowie im Grenzbereich des 2-LOD-Intervalls der AOH ein hochinteressantes, näher zu untersuchendes Kandidatengen dar.

Die Beteiligung des Kallikrein-Kinin-Systems (KKS) an der Regulation des Blutdruckes und der Entstehung einer Hypertonie beruht auf den vasodilatierenden und natriuretischen Eigenschaften der Kinine. Darüber hinaus konnten für Bradykinin auch kardioprotektive Wirkungen nachgewiesen werden, da es in einem Rattenmodell für Hypertonie in blutdruckunabhängigen Dosen die Entwicklung einer LVH verhinderte (Linz et al., 1993). Bestätigt wurden diese Beobachtungen durch experimentelle Studien, die u. a. bei LVH und Myokardinfarkt eine verminderte Aktivität des lokalen kardialen KKS feststellten (Sharma et al., 1998; Agata et al., 2002). Bei Hypertonikern wurde bereits 1934 durch Elliot und Nuzum ebenfalls eine erniedrigte KKS-Wirksamkeit beobachtet, die sich unter anderem in einer reduzierten Aktivität renalen Kallikreins, gesteigerten Konzentrationen an Kallikrein-Inhibitoren und Kininasen, einer verringerten Kininogen-Synthese sowie einer verminderten Kallikrein-Ausscheidung mit dem Urin äußert (Elliot & Nuzum, 1934; Margolius et al., 1971). Die Reduktion des peripheren und kardialen KKS könnte damit eine Ursache für die Entwicklung einer Hypertonie darstellen (Sharma et al., 1996). In diesem Zusammenhang stellen T-Kininogen (Kng) und die Kallikreine 1 und 6 (Kik1; Kik6), für die auf RNO 11 bzw. RNO 1 Kolokalisationen zu Blutdruck-QTL gefunden werden konnten sowie die Bradykinin Rezeptoren B1 und B2 (Bdkrb1; Bdkrb2), die im Bereich eines UAE-QTL auf RNO 6 kartieren, interessante Kandidatengene dar.

4.4 Zusammenfassung und Ausblick

Die essentielle arterielle Hypertonie stellt zusammen mit anderen häufig vorkommenden Krankheiten wie Diabetes mellitus, artherosklerotischen Erkrankungen, Asthma oder Osteoporose ein typisches Beispiel einer komplex regulierten, multifaktoriellen und polygenetischen Erkrankung dar. Durch die assoziierten gravierenden Folgeerkrankungen kardiovaskulärer, renaler und zerebrovaskulärer Art und die hohe, sich mit zunehmendem Alter weiter verstärkende Prävalenz nimmt die Hypertonie in einer Gesellschaft mit stetig steigender Lebenserwartung einen hohen medizinischen und gesundheitspolitischen Stellenwert ein. Die individuelle Blutdruckhöhe ergibt sich als Resultat mannigfaltiger Interaktionen einer Vielzahl von Genen untereinander und mit Umweltfaktoren. Eine ganz wesentliche Rolle innerhalb der mit dem Blutdruck interagierenden Umweltfaktoren spielt der Salzgehalt der Nahrung. Die Empfindlichkeit gegenüber Kochsalz und die davon abhängige individuelle Blutdruckantwort werden genetisch determiniert. Das schädigende Potential von Kochsalz äußert sich bei genetisch dafür prädisponierten Menschen in der verstärkten Manifestation und Progression von Herz-Kreislauf- und Nierenerkrankungen. Ziel der vorliegenden Arbeit war daher die Identifizierung genetischer Faktoren, die sowohl blutdruckabhängig als auch blutdruckunabhängig zur Entwicklung einer salzsensitiven Hypertonie sowie kardiovaskulärer und renaler Schäden führen. Da der Mensch aufgrund seiner genetischen Heterogenität in Verbindung mit einer Vielzahl individuell unterschiedlicher, nicht standardisierbarer Umwelteinflüsse, zu diesem Zweck nur eingeschränkt geeignet ist, wurden die speziell für das Merkmal Hypertonie gezüchteten, genetisch homogenen Inzuchtrattenstämme Dahl/SS/Jr und SHR/Mol verwendet. Eine F₂-Population der sich hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber Salz unterscheidenden Rattenstämme wurde im Rahmen einer Kosegregationsanalyse phänotypisch und genotypisch charakterisiert. Die statistische Analyse der Daten führte zur Identifizierung von sechs blutdruckregulierenden QTL sowie acht, teilweise blutdruckunabhängigen QTL mit Einfluss auf die renale bzw. kardiovaskuläre Schädigung. Drei weitere chromosomale Regionen, deren LOD-Scores dicht am Signifikanzniveau für wahrscheinliche Kopplung liegen, sind möglicherweise ebenfalls bei der Kandidatengenanalyse zu berücksichtigen. Häufig konnte eine Konzentrierung der QTL in bestimmten chromosomalen Regionen beobachtet werden, wobei die auf RNO 1, 3 und 19 lokalisierten QTL der LVH und AOH die ersten Kandidatengenregionen für die kardiovaskuläre Hypertrophie darstellen.

Die Analyse der Phänotyp-Ausprägung in Abhängigkeit von der QTL-Anzahl mit dem homozygoten krankheitsverstärkenden Allel bzw. dem Genotyp mit dem stärksten Phänotyp-Effekt erbrachte sowohl bei den Parametern für die kardiovaskuläre als auch für die renale Schädigung nicht notwendigerweise eine Verstärkung des Krankheitsphänotyps mit zunehmender QTL-Anzahl. Ausgehend von den Mittelwerten der einzelnen Gruppen ließ sich mit steigender QTL-Anzahl zwar ein ausgeprägterer Phänotyp feststellen, dieser Zusammenhang bestätigte sich allerdings beim Vergleich einzelner Tiere untereinander nicht generell. Einerseits verdeutlicht dieser Befund in Verbindung mit den teilweise unterschiedlichen Resultaten verschiedener, mit denselben Rattenstämmen durchgeführten Studien abermals die enorme Bedeutung der komplexen Wechselwirkungen genetischer Faktoren untereinander und mit Umweltvariablen sowie den Einfluss von Gen-Aktivierungs- und -Inaktivierungsmechanismen („Age of onset-Effekten“). Andererseits spricht er möglicherweise für weitere, unter den gewählten Studienbedingungen nicht detektierbare QTL. Zur Überprüfung dieser These wären zum einen eine Veränderung der Studienbedingungen oder die Kreuzung der Dahl/SS/Jr-Ratte mit einem anderen kontrastierenden Rattenstamm geeignet.

Die Suche nach bereits bekannten, krankheitsrelevanten Kandidatengenen erbrachte Kollokationen zu einzelnen Komponenten des RAAS, SNS, ETS und KKS. Wie eine kürzlich veröffentlichte Studie (Joe et al., 2003) zeigte, können zum jetzigen Zeitpunkt allerdings keine definitiven Aussagen zur Relevanz sowohl der detektierten QTL als auch potentieller Kandidatengene getroffen werden. Vielmehr müssen zur Beurteilung die Studienergebnisse der teilweise bereits etablierten kongenen Stämme herangezogen werden. Der entscheidende Ansatz für die Verifizierung möglicher Kandidatengene sowie die Identifizierung neuer krankheitsrelevanter Gene liegt dabei in der sukzessiven Einengung des wesentlichen chromosomalen Bereiches in Verbindung mit der dann durchführbaren Methode des positionellen Klonierens.

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse stellen in Kombination mit der Speed-congenics- und der Kandidatengen-Methode sowie unter Einbeziehung Spezies-übergreifender Genomvergleiche einen wichtigen Schritt für die Identifizierung neuer, krankheitsrelevanter Kandidatengene dar. Die Erforschung und Charakterisierung neuer Kandidatengene eröffnet wiederum die Möglichkeit einer frühzeitigen Erkennung von Risikopatienten und über die Entwicklung neuer Arzneistoffe eine verbesserte, individuelle Pharmakotherapie.