

4. Diskussion

Ziel des Projektes ist die Untersuchung der genetischen Grundlagen der Albuminurie im MWF-Modell. Mit der Detektierung einer signifikanten Kopplung auf Chromosom RNO8 trägt diese Arbeit zum Verständnis der Pathomechanismen "Albuminurie bei Hypertonus" bei.

Daneben wird einmal mehr die Bedeutung von genetischen Kopplungsanalysen bei der Untersuchung von polygenetischen Erkrankungen gezeigt. So konnten insgesamt acht QTL detektiert werden, deren Einfluss auf die Proteinurie oder Albuminurie statistisch signifikant oder zumindest wahrscheinlich sind.

Zwei dieser QTL spielen in dem Backcross MWF/SHR eine besondere Bedeutung, diese befinden sich auf RNO6 und RNO8. In dieser Arbeit soll vor allem auf den erstmalig nachgewiesenen Locus auf Chromosom RNO8 eingegangen werden.

Die weiteren Loci werden nur im Allgemeinen betrachtet.

4.1 Phänotypisierung der Parentaltiere

Die Parentalstämme zeigen beide eine deutliche Hypertension, die geschlechtsunabhängig gleich stark ausgeprägt ist.

Weiterhin besteht bei dem MWF-Stamm wie erwartet eine Proteinurie und Albuminurie. Die MWF-Ratten haben vorgeschädigte Nieren, deren Funktion aber noch nicht soweit eingeschränkt ist, dass es zu einem Anstieg der Retentionswerte, allen voran des Serumkreatinins kommt. Dies geschieht erst ab einer Halbierung der Clearance, bis dahin spricht man beim Menschen vom "Kreatininblinden" Bereich. Hier könnte sich die Proteinuriebestimmung als geeignetes Instrument erweisen, um auch bei einer noch nicht durch den Kreatininwert bestimmbarer Nierenfunktionseinschränkung zu vergleichbaren Messungen der Nierenschädigung zu gelangen.

4.2 Phänotypisierung der Backcrosstiere

Die Mittelwerte der systolischen Blutdrücke der Backcrosspopulation lagen etwas unter denen der Parentaltiere, aber immer noch im hypertensiven Bereich.

Die UAE-, und UPE-Werte liegen im Durchschnitt deutlich unter den Extremwerten der MWF-Parentaltiere, jedoch über denen der nierengesunden SHR-Tiere.

Es zeigen sich große Streubreiten als Anzeichen einer individuellen Suszeptibilität für Nierenschädigung.

Im Allgemeinen zeigen die jungen Tiere eine weniger ausgeprägte Proteinurie und Albuminurie, diese nimmt im Verlauf des Lebens zu.

Auffällig ist, dass einige Tiere des Backcross schon in der achten Woche eine deutlich erhöhte UAE zeigten (max. 33,29 mg/24 h), dieser Wert ist vergleichbar mit den UAE-Werten von ausgewachsenen Parentaltieren. Hier könnte es sich um einen spezifischen age-of-onset Effekt handeln, also die frühe Entwicklung einer Albuminurie aufgrund von besonders erhöhter Suszeptibilität.

4.3 RNO8 UAE

Die stärkste Kopplung auf RNO8 zum Phänotyp UAE liegt mit dem Höhepunkt des LOD-Wertes bei D8Rat35 und beträgt im Alter von 14 Wochen 4,4 ($p=2 \times 10^{-5}$), ist damit also schon statistisch signifikant. Im Alter von 24 Wochen beträgt der LOD-Score sogar 6,4 ($p=3 \times 10^{-7}$). Der Marker überspannt im signifikanten Bereich eine Länge von ca. 30 cM, im statistisch wahrscheinlichen Bereich sogar eine Länge von 45 cM. Damit ist die "region of interest" noch relativ groß, denn 45 cM enthalten ca. 7×10^7 Basenpaare und damit bis zu 1750 Gene (Rapp, 2000).

Dieses scheint eine unüberschaubar große Anzahl an Genen zu sein. Allerdings ist bemerkenswert, dass der Höhepunkt des LOD-Graph sich ziemlich genau bei D8Rat35 befindet, mit nur einer geringfügigen Verschiebung nach D8Rat19.

Außerdem fällt der Graph nach beiden Seiten gleichmäßig ab, so dass anzunehmen ist, dass sich die Kandidatengenregion nahe bei D8Rat35 befindet. Von einem sog. "ghostpeak", also einem falschen Wendepunkt, der zwei kleinere Wendepunkte rechts und links flankierend maskiert, ist hier aufgrund der Gleichmäßigkeit des Graphen nicht auszugehen (Rapp, 2000).

Eine Homozygotie für das MWF-Allel an dieser Stelle des Chromosoms geht mit einer im Schnitt zweieinhalbfachen Zunahme der Albuminurie einher ($19,98 \pm 26,24$ mg/24h im Vergleich zur Heterozygotie mit $8,53 \pm 14,42$ mg/24h, $p=3 \times 10^{-7}$). RNO8 trägt damit ca. 11 Prozent zur quantitativen Varianz des Phänotypen UAE bei.

Auffällig ist, dass es im Alter von 8 Wochen an dieser Stelle überhaupt keine Kopplung zu D8Rat35 existiert, der LOD-Wert beträgt an dieser Stelle 0,3.

Es handelt sich hier also um einen QTL, dessen Bedeutung erst mit zunehmendem Alter zum Tragen kommt.

Zwei weiterer Scheitelpunkte des Graphen befinden sich zwischen D8Rat50 und D8Rat53 und bilden an dieser Stelle eine Art Plateau. Auch diese beiden Scheitelpunkte sind statistisch signifikant mit einem max. LOD-Wert von 4,0. Bemerkenswert ist, dass dieser LOD-Wert nur zum Zeitpunkt 14 Wochen erreicht wird. Bei 24 Wochen beträgt der max. LOD-Wert nur noch 3,5 bei D8Rat50 sowie 3,0 (und damit statistisch nur noch wahrscheinlich gekoppelt) bei D8Rat53.

Üblicherweise steigt eine Phänotyp in seiner Wahrscheinlichkeit, mit einem bestimmten Marker vererbt zu werden, mit zunehmendem Alter an; dieser QTL hat jedoch schon im Alter von 14 Wochen seine stärkste Kopplung.

Warum der LOD-Wert mit zunehmendem Alter jedoch sinkt, und damit die Wahrscheinlichkeit eines Einflusses auf den Phänotypen abnimmt, oder ob es sich dabei nur um einen zufälligen Effekt handelt, kann zurzeit noch nicht beantwortet werden.

Auffällig ist weiterhin, dass zum Zeitpunkt der ersten Messung mit 8 Wochen sich noch überhaupt kein QTL bei D8Rat35 darstellt.

Im Gegenteil, die stärkste Kopplung für UAE im Alter von 8 Wochen auf RNO8 ist ein schwach ausgebildeter, statistisch nicht wahrscheinlicher Scheitelpunkt, der weit entfernt liegt vom stärksten QTL auf RNO8 bei D8Rat35. Er befindet sich deutlich näher am Bereich D8 Rat50-D8 Rat53, trifft aber auch diesen nicht genau.

Eingangs wurde darauf hingewiesen, dass die QTL auf Chromosom 8 in der MWF/Lew-Kreuzung gar nicht aufgetreten ist (Schulz, 2002).

Dies deutet darauf hin, dass der QTL bei D8Rat35 entscheidend durch den SHR-Hintergrund in seiner Bedeutung verstärkt wird, oder durch diesen überhaupt erst in den Backcross eingeführt wurde.

Bei D8Rat35 des SHR-Genoms befinden sich also ein oder mehrere Gene, die die UAE verstärken. Da dieser Effekt aber nicht im Backcross MWF/Lew aufgefallen ist, müssen sich entweder im Lew-Stamm protektive Allele befinden, oder durch eine Gen-Gen-Interaktion mit dem SHR-Stamm kommt es zur vollen Ausprägung dieses QTL. Auch dieser Effekt deutet wieder auf die Komplexität und Vielgestaltigkeit der Phänotypen Proteinurie und Albuminurie hin.

Untersuchungen haben gezeigt, dass sich auf dem Chromosom 8 des SHR-Stammes ein Genabschnitt befindet, der bei Homozygotie großen Einfluss auf die

Herzmasse und den systolischen Blutdruck ausübt (Kren et al, 1997). Im Gegensatz dazu war in unserer Untersuchung der Blutdruck der Backcross-Tiere annähernd gleich. Allerdings werden in der oben genannten Studie keine Aussagen über Proteinurie getroffen; es ist denkbar, dass Proteinurie regulierende Einflüsse auch einen Effekt auf den Blutdruck haben.

4.4 RNO8 UPE

Wie schon bei den Ergebnissen erwähnt, entsprechen die Kopplungen für Urinproteinexkretion in etwa denen für Urinalbuminexkretion, allerdings in einer deutlich schwächeren Ausprägung.

Absolut betrachtet ist die Proteinurie der Backcross-Tiere stärker ausgeprägt als die Albuminurie, da ja Albuminurie ein Teil der Gesamtproteinurie ist. Des Weiteren finden sich Immunglobuline und Transportproteine wie Transferrin und Hämoglobinbestandteile im Urin nephrotischer Ratten, die den Großteil des absoluten Unterschieds zwischen Proteinmenge und Albuminmenge ausmachen.

Hier zeigt sich die Sensibilität der Albuminurie als Indikator einer geschädigten Niere im Gegensatz zur unspezifischen Proteinurie.

Die stärkste Kopplung auf RNO8 für UPE befindet sich bei D8Rat35 und entspricht der Kopplung für UAE. Allerdings ist im Alter von 8 Wochen gar keine Kopplung detektierbar. Auch die für UAE im Alter von 8 Wochen detektierbare knapp wahrscheinliche Kopplung bei D8Rat53 tritt für die UPE nicht zutage.

Ein einziger Marker auf RNO15 hatte im Alter von 18 Wochen eine statistisch wahrscheinliche Bedeutung für eine Kopplung für die Urinproteinexkretion, nicht jedoch für die Urinalbuminexkretion.

4.5 Bedeutung der gefundenen QTL

In dieser Studie wurden 3 weitere QTL mit signifikanten Kopplungen zur Albuminurie auf den Chromosomen RNO 1, RNO 6 und RNO 9 gefunden.

Besonders der QTL auf RNO 6 ist von entscheidender Bedeutung. Hier hatte sich schon in einer nierengeschädigt/normotensiven Kreuzung MWF/Lew ein QTL für die UAE gefunden, dieser war in der vorliegenden nierengeschädigt/hypertensiven Kreuzung MWF/SHR noch stärker ausgeprägt. Eine Homozygotität auf RNO6 bei D6Mit6 für das MWF-Allel geht mit einer im Schnitt dreifachen Erhöhung der Albuminurie einher.

Bisher konnte noch nicht geklärt werden, ob es irgendwelche einander verstärkenden oder abschwächenden Effekte der QTL auf RNO6 und RNO8 gibt.

Folgendes spricht jedoch für verstärkende Einflüsse: In der Kreuzung MWF/SHR mit einem nierengesunden Tier hätte erwartet werden können, dass die aus der MWF/Lew Kreuzung bekannte UAE-Kopplung auf RNO6 annähernd stabil bleibt, da hier das MWF-Allel schon einen großen Teil des Phänotyps Albuminurie ausmacht. Dieses ist jedoch nicht der Fall, die UAE nimmt zu und der LOD-Wert steigt sogar um knapp 40 Prozent, so dass nicht nur von einer Zunahme der UAE durch neue Loci (RNO8) auszugehen ist, sondern auch von einer positiven Beeinflussung des schon bekannten Locus auf RNO6.

Dieses ist jedoch spekulativ und sollte durch die Etablierung kongener Stämme überprüft werden

Alle QTL, die in dieser Studie von signifikanter Bedeutung waren, zeigen eine mögliche Übereinstimmung mit UAE und UPE QTL, die kürzlich in einer experimentellen Kreuzung zwischen Dahl-, und SS-Rattenstämmen gefunden wurden (Poyan et al. 2003).

SS-Raten zeigen eine von Salzbelastung unabhängige Form der Proteinurie, ähnlich wie die MWF-Ratte. Es scheint nahe zu liegen, dass bei diesen beiden Formen der Albuminurie bei unterschiedlichen Inzuchtstämmen die gleichen genetischen Grundlagen vorliegen.

Im menschlichen Chromosom kartieren die jeweils homologen Chromosomregionen der QTL auf RNO8 auf die Chromosomen 14q24 und 15q (<http://www.rgd.mcw.edu/VCMAP/>).

An dieser Stelle befinden sich einige Gene, bei denen ein Einfluss auf das Schlitzdiaphragma als Ort der renalen Proteinfiltration vorstellbar wäre, so z.B. der Wachstumsfaktor TGF-beta3 (TGFb3), der für die Nierenreifung eine Rolle spielt, das Zytoskelettprotein Alpha-actinin1 (Actn1), welches für den Aufbau des Schlitzdiaphragma von Bedeutung ist, und das Membranprotein Arginase 2 (arg2), dass im NO-Regulationsmechanismus eine wichtige Funktion auf den Gefäßtonus ausübt.

Allerdings ist eine vergleichende Analyse zwischen dem menschlichen Genom und dem Rattengenom an dieser Stelle aufgrund der schieren Chromosomengröße und der damit verbundenen Genmenge sehr spekulativ.

Es können sich zu viele unterschiedliche Gene in dieser "region of interest" verbergen, die einen bereits bekannten oder noch unbekanntem Einfluss auf die Funktion der Niere haben.

Bei der Rate befinden sich auf einer Länge von 0,5 cM immerhin ca. 20 Gene (Rapp), und die von mir durchgeführte Intervallkartierung geschah im Abstand von 10cM.

Alle vier gefundenen QTL überspannen einen Bereich, der größer als 10 cM ist.

Der betreffende Bereich auf Chromosom RNO8 ist insgesamt sogar größer als 40 cM, somit befinden sich noch mehr als 1600 Gene auf diesem Abschnitt. Welche davon überhaupt für die Niere bzw. für die Proteinurie von Bedeutung sind, und ob sich nicht auch protektive, also die Albuminurie herabsetzende Gene darunter befinden, die den Einfluss des QTL schwächen, ist nicht bekannt.

Damit sind diese Abschnitte für die Sequenzierung oder Klonierung noch viel zu groß.

Die Framingham Studie hat kürzlich nachgewiesen, dass es auch beim Menschen in einer primär nicht nierengeschädigten Kohorte QTL gibt, die für eine Mikroalbuminurie mitverursachend sein können (Fox et al. 2004). Hierbei handelt es sich um eine statistisch wahrscheinliche Kopplung auf dem menschlichen Chromosom 8.

Auch in dieser Untersuchung hat sich gezeigt, dass die Mikroalbuminurie erblich mitbestimmt wird. Darüber hinaus ist für denselben QTL bei einer hypertensiven Untergruppe kein höherer LOD-Wert gefunden worden. Es kann gefolgert werden, dass die Prädisposition für Mikroalbuminurie zum Teil vererbt wird, es im Rahmen der genetischen und vor allem der umweltabhängigen Varianz jedoch zu unterschiedlicher Ausprägung kommt.

4.6 Einzelne Gene oder ein Zusammenspiel?

Die Identifikation von QTL, die die UAE und UPE beeinflussen, war ein maßgebliches Ziel dieser Arbeit. Es gilt, hierfür geeignete Studiendesigns und Tiermodelle zu entwickeln.

Die MWF-Ratte ist durch verschiedene phänotypische Eigenschaften ein ideales Modell zur Untersuchung der klinisch manifesten Endorganschäden bei Hypertonie. Zu diesen Eigenschaften zählen unter anderem verminderte absolute Anzahl der Glomeruli bei jedoch erhöhter Anzahl der subkapsulären Glomeruli, eine

Vergrößerung des Bowmanschen Kapseldurchmessers und die altersabhängige Glomerulosklerose. Damit eignet sie sich aufgrund ihres Phänotyps gut für die genetische Grundlagenforschung von Krankheiten wie der Hypertonie. Allerdings dürfen die Erwartungen in solche Modelle nicht zu hoch gesetzt werden.

Zu Beginn der neunziger Jahre, als entscheidende Durchbrüche in der für die Entschlüsselung des genetischen Codes notwendigen Technik gemacht waren, bestand große Zuversicht, eines Tages das oder die Gene, die für die Entstehung von Krankheiten wie der Hypertonie verantwortlich sind, zu entdecken.

Die Zeitschrift "The Lancet" fragt jedoch in ihrer Ausgabe 361 von 2003: "Where are all the blood pressure genes?" und beantwortet die Frage gleich selbst; aufgrund der genetischen Vielfalt und Variabilität sei es schwierig, einzelne schuldige Gene herauszufiltern. Vielmehr sollte die Suche nach gemeinsamen Pathomechanismen und den damit verbundenen präventiven und kurativen Ansätzen durch die Genetik unterstützt werden.

Allerdings sind 90% der Hypertonieformen multifaktorieller Genese, d.h. sie ergeben sich aus dem diffizilen Zusammenspiel verschiedener Allele und Umweltfaktoren.

Man spricht hierbei von der primären, essentiellen Hypertonie.

Im Gegensatz dazu werden nur 10 % der Hypertonieerkrankungen verursacht durch Punktmutationen einzelner Gene. Beispiele hierfür sind der Glukokortikoid-sensitive Hyperaldosteronismus (GRA), das Liddle-Syndrom, der augenscheinliche Mineralkortikoidexzeß (AME), der Pseudohypoaldosteronismus Typ 1, das Bartter-Syndrom und das Gitelman-Syndrom.

Frühere Untersucher haben auch für die Proteinurie monogenetische Veränderungen nachgewiesen. So kommt es bei homozygoten Trägern des im rezessiven Modus vererbten *NEPH1*-Defektes zu ausgeprägter, schon im Kindesalter beginnender Durchlässigkeit der Schlitzmembran und damit zur Proteinurie (Kestila et al. 1998).

Eine monogenetische Ursache einer Proteinurie und Albuminurie ist jedoch eine Ausnahme, meistens handelt es sich um eine multifaktorielle Genese.

Ähnlich wie bei der Hypertonie ist es auch bei Proteinurie und Albuminurie nicht gelungen, einzelne "culprit-Gene" zu identifizieren, die für die Ausprägung verantwortlich sind. Im Gegenteil, eine große Anzahl von mehr oder weniger stark beeinflussenden Genen scheint an der Ausbildung der UPE/ UAE beteiligt zu sein. Dieses ist nicht verwunderlich, und auch in anderen Untersuchungen oder Krankheitsmodellen nicht gelungen.

So wird der systolische Blutdruck bei den Dahl-Salzsensitiven Ratten durch 16 QTL beeinflusst (Rapp, 2000), Diabetesentwicklung bei der nichtadipösen diabetischen Maus sogar durch 17 QTL (Lyons et al. 2001).

Vielmehr ist eine Suszeptibilität, eine potentielle Störung der Proteinfiltrationsbarriere, vorhanden, die durch viele QTL mitbestimmt wird und durch Umwelteinflüsse verstärkt oder abgeschwächt werden kann.

Eine interessante Arbeit, um der gegenseitigen Beeinflussung der unterschiedlichen QTL auf den Grund zu gehen, ist durch Van Dijk veröffentlicht worden.

Hier wurden synergistische Effekte verschiedener QTL nachgewiesen, die die Suszeptibilität für Proteinurie und Nierenschädigung erhöhen, indem kongene Stämme mit je einem Locus und beiden Loci zusammen mit normalen Kontrolltieren verglichen wurden.

Zusätzlich wurden die Tiere einer Hypertonieinduzierenden Behandlung unterzogen. Dabei zeigte sich, dass die Nierenschädigung auch bei den Tieren vermehrt auftrat, die nur für einen der beiden QTL homozygot waren, jedoch am stärksten ausgeprägt war bei den Tieren, die für beide QTL homozygot waren. Dieser Effekt beruht nicht nur auf der Summation beider Einzelkomponenten, sondern es muss eine gegenseitige Beeinflussung und Potenzierung gegeben sein (Van Dijk et al. 2006)

4.7 Geschlechtsspezifische Unterschiede

Es war nicht Ziel dieser Studie, einen geschlechtsspezifischen Unterschied beim SBP oder bei der UAE/ UPE zu detektieren. Dieses hätte mit dem vorliegenden Ansatz auch gar nicht geleistet werden können, da keine reziproke Kreuzung angestrebt wurde. Hierzu hätte man zwei Backcrosspopulationen anlegen müssen, bei denen jeweils das Y-Chromosom des anderen Stammes beteiligt gewesen wäre. Dieses wurde im vorliegenden Experiment nicht durchgeführt, da nur der MWF-Stamm als Y-Chromosomdonor fungierte. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass ein sich auf dem Y-Chromosom befindlicher QTL Einfluss auf die Proteinpermeabilität der Niere hat. Schon länger ist bekannt, dass männliche und weibliche MWF-Ratten einen signifikanten Unterschied hinsichtlich der UAE, UPE und der Progression renaler Erkrankungen aufweisen, obwohl beide Geschlechter eine vergleichbare Reduktion der Glomeruli zeigen (Fassi et al. 1998; Remuzzi et al. 1988).

4.8 Ausblicke

Um die interessanten Genabschnitte zu verkleinern, kann im nächsten experimentellen Schritt ein kongener Stamm gezüchtet werden.

Dabei gibt es zwei verschiedene Vorgehensweise: Entweder dient der hyperalbuminurische Stamm als Donorstamm, d.h. der Locus mit dem größten LOD-Wert wird in den genetischen Hintergrund des nierengesunden Stamm durch Züchtung "überführt", oder der normoalbuminurische Locus wird in den hyperalbuminurischen Hintergrund überführt, der bei dieser Variante der Rezipientenstamm ist. Kommt es zu einer Albuminurie, befinden sich auf dem "eingeführten Abschnitt" ein oder mehrere Gene, die die Suszeptibilität, also die Anfälligkeit für Proteinurie erhöhen.

Sind die Tiere wider erwarten nicht albuminurisch, kann es an zwei Ursachen liegen: Entweder benötigt der QTL, der eingeführt wurde, zur Entwicklung seiner vollen Penetranz ein oder mehrere weitere Gene, die nun aber nicht mehr vorhanden sind (Epistasie), oder in dem neuen Hintergrund befinden sich protektive Gene, die die eigentliche Penetranz herabsetzen.

Werden die Tiere jedoch albuminurisch, so kann man eine erneute linkage-Analyse durchführen, diesmal mit Markern, deren Abstand im introgressierten Genabschnitt kleiner gewählt ist als bei der ersten Kreuzung, um so eine erneute Verkleinerung und damit eine Reduktion der Anzahl der Gene des QTL zu erreichen.

Als letzten Schritt bietet sich dann die Sequenzierung der Genprodukte an.

Abschließend ist zu sagen, dass auch die hier durchgeführte Untersuchung nur unzureichende Antworten auf viele Fragen über die Entstehung und Bedeutung der Proteinurie und Albuminurie besonders im Zusammenhang mit Hypertonie geben kann. Trotzdem ist die Bestätigung eines schon bekannten QTL auf RNO6 sowie die Beschreibung eines neuen QTL auf RNO8 ein kleiner Schritt hin zu einem besseren Verständnis der von Harrap 2003 geforderten Pathomechanismen hinter polygenen Erkrankungen: "Instead of genetic searches for the whereabouts controlling blood pressure, a search is needed for molecular clues to the common physiological mechanisms underlying disease, by strengthening the bridges between molecular and integrative biological sciences. Then genetics will fulfill its promise."

Dazu soll diese Arbeit als Mosaikstein einer größeren Untersuchung der Proteinurie bei Hypertonie anhand des MWF-Modells beitragen.

4.9 Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war die Untersuchung der genetischen Grundlagen der Albuminurie bei der MWF-Ratte. Wie sich in vielen Voruntersuchungen gezeigt hatte, ist die Albuminurie ein wichtiger Faktor bei der Diagnostik und Therapie der Hypertonie.

Die MWF-Ratte eignet sich dabei aufgrund artspezifischer Eigenschaften besonders als Untersuchungsobjekt, da eine schon vorbestehende Albuminurie durch Inzucht noch verstärkt werden konnte.

Als erster Arbeitsschritt wurden Phänotypen und Genotypen von Parentaltieren bestimmt. In diesem Projekt wurde ein Kreuzungsschema zwischen einem nierengeschädigten, hypertensiven (MWF/Rks) Stamm und einem ebenso hypertensiven, aber nierengesunden (SHR/Rks) Stamm gewählt. Hintergedanke hierzu war die Hoffnung, die hypertensiven Folgen der Nierenschädigung "auszublenden", also weitere Einflussfaktoren zu minimieren, um so die genetischen Grundlagen der Albuminurie aufspüren zu können.

Anschließend wurde ein Backcross durch Verpaarung der weiblichen F1-Generation mit dem MWF-Vatertier generiert.

Von diesem Backcross, insgesamt 215 Tiere, wurde eine Phänotypisierung im Alter von 8 Wochen, 14 Wochen und 24 Wochen durchgeführt für unter anderem die Parameter systolischer Blutdruck, Albuminurie und Proteinurie. Es zeigte sich, dass die Tiere im Vergleich zur Parentalgeneration einen vergleichbaren Blutdruck aufwiesen, jedoch deutlich höhere Albuminuriewerte auch schon bei jungen Tieren bestanden.

Nach 24 Wochen wurden die Tiere entsprechend den Tierschutzbestimmungen getötet und die Organe zur weiteren Verwendung entnommen. Außerdem wurden DNA-Extrakte aus Leber und Schwanzspitze sichergestellt.

Aus diesen phänotypischen Daten wurden jeweils 23 Extremtiere mit der höchsten und niedrigsten Albuminurie ausgewählt.

Für alle Extremtiere wurde ein vollständiger Genomscreen im Abstand von ca. 10cM durchgeführt. Hieraus ergaben sich Kopplungsergebnisse auf mehreren Chromosomen, die eine Kopplung zwischen der betreffenden Region und dem Phänotyp Albuminurie nahe legen (QTL, Quantitative Trait Loci).

Für die so vorselektierten Chromosomenabschnitte wurden im nächsten Schritt alle Tiere einem Genomscreen zugeführt. Hierbei verloren einige Loci ihre signifikante

oder wahrscheinliche Kopplung. Statistisch signifikante Kopplungen waren nur noch auf den Chromosomen 6 und 8 detektierbar.

Diese Arbeit geht im Besonderen auf den in dieser Kreuzungsstudie neu aufgetretenen Locus auf RNO8 ein.

Es zeigte sich ein maximaler LOD von 6,4 an D8Rat35 im Alter von 24 Wochen, $p = 3 \times 10^{-7}$. Hiermit ist zum ersten Mal eine Kopplung der Albuminurie zu RNO8 aufgezeigt worden. Ein schon bekannter QTL auf RNO6 konnte bestätigt werden.

Die Albuminurie scheint Blutdruckunabhängig zu sein, es konnte kein QTL für den systolischen Blutdruck auf RNO8 nachgewiesen werden.