

Université de Montréal

Localisation d'un locus pour trait quantitatif pour l'hypertension
sur le chromosome 18 du rat Dahl

présenté par

Raphaëlle Lambert

Programme de biologie moléculaire
Faculté des études supérieures

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.)

Avril 2005

© Raphaëlle Lambert, 2005



QH

506

U54

2005

V.026

Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

Localisation d'un locus pour trait quantitatif pour l'hypertension
sur le chromosome 18 du rat Dahl

présenté par

Raphaëlle Lambert

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Bernard Brais
président-rapporteur

Alan Y. Deng
directeur de recherche

Silvia Vidal
membre du jury

Résumé français

L'hypertension essentielle constitue un facteur de risque important pour les maladies cardiovasculaires. Il s'agit d'une maladie multifactorielle influencée par des facteurs génétiques et environnementaux. Précédemment, une étude de liaison génétique a identifié un locus pour trait quantitatif (QTL) associé à la pression artérielle sur le chromosome 18 du rat.

Afin d'étudier l'hypertension dans un environnement homogène, nous utilisons des souches de rats consanguines, où tous les animaux sont génétiquement identiques. Des souches congéniques sont construites par une série de croisements entre le rat hypertendu Dahl *salt-sensitive* (S), et le rat normotendu Lewis (LEW). Ceci résulte en une souche congénique dont le génome provient de la souche hypertendue S, sauf pour une région qui est remplacée par la région homologue de la souche normotendue LEW. À l'aide de marqueurs microsatellites, une carte génétique détaillée du chromosome 18 a été faite, et plusieurs souches congéniques ont été créées.

La pression artérielle moyenne (MAP), mesurée par télémétrie, diminue significativement dans les souches congéniques S.L1, S.L2, S.L3, et S.L4 par rapport à la souche S. La MAP n'est pas significativement différente pour S.L5 et S.L6 par rapport à S, et pour L.S1 par rapport à LEW. Les pressions artérielles systoliques et diastoliques varient de façon concordante avec les valeurs de MAP.

Donc, le chromosome 18 du rat Dahl contient un QTL pour la pression artérielle. L'étude de ce QTL sur le chromosome 18 du rat pourra aider à mieux comprendre la génétique de l'hypertension.

Mots clefs

Hypertension essentielle, pression artérielle, souche congénique, rat Dahl *salt-sensitive*, cartographie génétique, modèle animal, chromosome 18.

Résumé anglais

Abstract

Essential hypertension is an important risk factor for cardiovascular diseases. It's a multifactorial disease influenced by genetic and environmental factors. Previously, linkage analysis studies have led to the mapping of a quantitative trait locus (QTL) for blood pressure on rat chromosome 18.

To study hypertension in a controlled environment, we use inbred rat strains, where all animals are genetically identical. Congenic strains are constructed by a series of crosses between the hypertensive Dahl *salt-sensitive* rat (S) and the normotensive Lewis rat (LEW). This results in a congenic strain which has a genetic background from the hypertensive S strain, except for a region which is replaced with the homologous region of the normotensive LEW strain. With the help of microsatellite markers, a detailed genetic map of chromosome 18 was constructed, and seven congenic strains were created.

The mean arterial pressure (MAP), measured by telemetry, is significantly lower in the congenic strains S.L1, S.L2, S.L3 and S.L4 when compared to S. The MAP is not significantly different for S.L5 and S.L6 when compared to S, neither for L.S1 when compared to LEW. The systolic and diastolic arterial pressures vary consistently with MAP values.

Therefore, the Dahl rat chromosome 18 contains one QTL for blood pressure. The study of this QTL on rat chromosome 18 could help better understand the genetics of hypertension.

Key words

Essential hypertension, blood pressure, congenic strain, Dahl salt-sensitive rat, genetic mapping, animal model, chromosome 18.

Table des matières

Résumé français.....	iii
Résumé anglais.....	iv
Table des matières.....	v
Liste des sigles et abréviations.....	ix
Remerciements.....	xi
INTRODUCTION.....	1
Chapitre 1 - Hypertension.....	2
1.1 La pression sanguine.....	2
1.1.1 Système rénine-angiotensine (RAA).....	3
1.1.2 La pression sanguine, un trait quantitatif et polygénique.....	5
1.2 Hypertension.....	7
1.2.1 Épidémiologie.....	8
1.2.2 Hypertension chez les femmes.....	8
1.2.3 Hypertension secondaire.....	9
1.2.4 Hypertension monogénique.....	9
1.2.5 Hypertension essentielle.....	11
1.3 Hypertension et environnement.....	12
1.3.1 Sensibilité au sel.....	13
1.3.2 Stress.....	14
1.3.3 Obésité.....	15
1.4 Membrane plasmique et transport d'ions.....	15
1.4.1 Rôle du sodium.....	16
1.4.2 Stéroïdes cardiotoniques endogènes.....	17
1.4.3 Rôle du calcium intracellulaire.....	17
1.5 Traitements contre l'hypertension.....	19
Chapitre 2 - Approche génétique.....	21
2.1 Stratégie.....	21
2.1.1 Analyse de liaison génétique.....	21
2.1.2 Études d'association.....	23

2.2 Méthodologie.....	24
2.2.1 Approche par gènes candidats.....	24
2.2.2 Criblage du génome entier.....	25
2.3 Modèles animaux génétiques pour l'hypertension.....	25
2.3.1 Le rat.....	25
2.3.2 Souches consanguines pour l'hypertension.....	26
Chapitre 3 - Isolation d'un QTL.....	30
3.1 Criblage du génome entier.....	31
3.2 Lignées congéniques.....	31
3.2.1 Marqueurs microsatellites.....	34
3.3 Cartographier un chromosome.....	35
3.3.1 Carte génétique.....	35
3.3.2 Carte d'hybride de radiation.....	35
3.3.3 Carte physique.....	36
3.3.4 Carte cytogénétique.....	37
3.3.5 Corrélation entre les cartes.....	37
3.3.6 Carte d'homologie.....	37
3.4 Étude de gènes candidats.....	38
Chapitre 4 - Le chromosome 18 du rat et l'hypertension.....	41
4.1 Études chez le rat.....	41
4.2 Études chez l'humain.....	44
PROJET DE RECHERCHE.....	45
MÉTHODES.....	47
Chapitre 5 - Lignées congéniques et pression artérielle.....	48
5.1 Modèle animal.....	48
5.2 Marqueurs microsatellites.....	48
5.3 Lignées congéniques sur le chromosome 18.....	50
5.4 Télémétrie.....	51
5.5 Analyse statistique.....	52
RÉSULTATS.....	54
Chapitre 6 - Pression artérielle des lignées.....	55
6.1 Lignées congéniques sur le chromosome 18.....	55
6.2.1 Résumé des résultats de pression artérielle.....	70

DISCUSSION	71
Chapitre 7 - Stratégie de génétique animale.....	72
7.1 De l'animal à l'humain	72
7.2 Modèle animal.....	73
7.2.1 La souris comme modèle de l'hypertension	73
7.2.2 Le rat comme modèle de l'hypertension.....	74
7.2.3 Les souches consanguines de rats S et LEW.....	74
7.2.4 Lignées congéniques.....	75
Chapitre 8 - Localisation de QTL	77
8.1 Un QTL sur le chromosome 18 du rat Dahl	77
8.1.1 QTL1	77
8.1.2 Interaction entre QTLs	77
8.2 Recherche de gènes candidats	78
8.3 Arrière-plan génétique Lewis	81
Chapitre 9 - Influence des facteurs génétiques et environnementaux	82
9.1 Facteurs environnementaux.....	82
9.1.1 Sexe de l'animal	82
9.1.2 Âge de l'animal	83
9.1.3 Diète de l'animal	83
9.1.4 Méthode de mesure de la pression artérielle	83
9.2 Facteurs génétiques.....	84
9.2.1 Arrière-plan génétique	84
9.2.2 Effet de position	85
9.2.3 Interaction entre les QTLs	86
CONCLUSION	89
 ANNEXE A	
Gènes retrouvés dans la région du QTL1.....	xi

Liste des figures

Figure 1	Système rénine-angiotensine (RAA).....	5
Figure 2	Distribution de fréquence de la pression artérielle systolique déterminée par un modèle de deux loci/deux allèles.	7
Figure 3	Rôle de l'échangeur NCX1 dans l'hypertension sensible au sel	18
Figure 4	Construction d'une lignée congénique.....	33
Figure 5	Représentation des QTLs pour la pression artérielle isolés sur le chromosome 18 du rat	43
Figure 6	Représentation du <i>LOD score</i> obtenu pour la pression sanguine sur le chromosome 18.	44
Figure 7	Pression artérielle moyenne (MAP) des souches S (Dahl <i>salt-sensitive</i>) et LEW (Lewis).	49
Figure 8	Marqueur microsatellite amplifié par PCR sur plusieurs échantillons d'ADN.	50
Figure 9	Carte des lignées congéniques sur le chromosome 18.....	57
Figure 10	Pressions artérielles de la souche S.L1	62
Figure 11	Pressions artérielles de la souche S.L2.....	63
Figure 12	Pressions artérielles de la souche S.L3 pour les rats mâles	64
Figure 13	Pressions artérielles de la souche S.L3 pour les rats femelles	65
Figure 14	Pressions artérielles de la souche S.L4.....	66
Figure 15	Pressions artérielles de la souche S.L5.....	67
Figure 16	Pressions artérielles de la souche S.L6.....	68
Figure 17	Pressions artérielles de la souche L.S1	69
Figure 18	Carte d'homologie de la région du QTL1	80

Liste des tableaux

Tableau I	Médicaments anti-hypertension	19
Tableau II	Lignées de rats développées sélectivement pour l'étude de l'hypertension.....	27
Tableau III	Bases de données de marqueurs microsatellites disponibles sur Internet.....	34
Tableau IV	Marqueurs utilisés pour construire des lignées congéniques S x LEW.....	51
Tableau V	Marqueurs microsatellites polymorphiques entre S et LEW situés sur le chromosome 18.....	58
Tableau VI	Nouveaux marqueurs microsatellites sur le chromosome 18.....	59
Tableau VII	Pression artérielle moyenne (MAP) des lignées congéniques construites sur le chromosome 18 et des souches témoins S et LEW	70
Tableau VIII	QTLs pour la pression sanguine localisés chez le rat Dahl <i>salt-sensitive</i> (S).....	87

Liste des sigles et abréviations

ACE	Enzyme de conversion de l'angiotensine
ACTH	Hormone adrénocorticotropique
ACV	Accident cérébrovasculaire
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ang	Angiotensine
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide riboxynucléique messenger
ATP	Adénosine triphosphate
BAC	<i>Bacterial Artificial Chromosome</i>
CR	Croisement retour
BN	<i>Brown Norway</i>
Ca ²⁺	ion calcium
chr	chromosome
CHUM	Centre Hospitalier de l'Université de Montréal
Camk2d	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase (CaM kinase) II delta
cAMP	Adénosine monophosphate cyclique
cGMP	Guanosine monophosphate cyclique
cM	centimorgan
Cpb	<i>Capping protein beta</i>
cR	centirad
DAP	<i>Diastolic arterial pressure</i>
DASH	<i>Dietary Approaches to Stop Hypertension</i>
ECA	Enzyme de conversion de l'angiotensine
Edn1	Endothéline 1
Ela2	<i>Elastase II</i>
EST	<i>Expressed Sequence Tag</i>
Gca	<i>Grancalcin</i>
h	heure
hsp70	<i>Heat shock protein 70</i>
K ⁺	ion potassium
Kcnn2	<i>Potassium intermediate/small conductance calcium-activated channel, subfamily N, member 2</i>
kDa	kilodalton
kb	kilobase
kg	kilogramme
LEW	Rat <i>Lewis</i>

MAP	<i>Mean arterial pressure</i>
MAPK	<i>Mitogen activated protein kinase</i>
Mb	Méga paires de bases (6×10^6 pb)
min	minute
mg	milligrammes
mmHg	millimètres de mercure
MNS	Milan Normotensive
Na ⁺	ion sodium
NaCl	chlorure de sodium
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NCX	<i>Sodium calcium exchanger</i>
NHANES	<i>Third National Health and Nutrition Examination Survey</i>
pb	paire de bases
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PHA1	Pseudo-hypoaldostéronisme type 1
QTL	<i>Quantitative Trait Locus or Loci</i>
R	<i>Rat Dahl salt-resistant</i>
RFLP	<i>Restricted Fragment Length Polymorphism</i>
RH	<i>Radiation Hybrid</i>
S	<i>Rat Dahl salt-sensitive</i>
SAP	<i>Systolic Arterial Pressure</i>
sec	seconde
SBH	<i>Rat Sabra hypertensive</i>
SBN	<i>Rat Sabra normotensive</i>
SCT	Stéroïde cardiotonique
SHR	Spontaneously hypertensive rat
SHRP	Spontaneously hypertensive rat stroke-prone
Slc4a9	<i>Solute carrier family 4, sodium bicarbonate cotransporter, member 9</i>
SNC	Système nerveux central
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SSLP	<i>Simple Sequence Length Polymorphism</i>
tnf α	<i>Tumor necrosis factor α</i>
VNTR	<i>Variable Number Tandem Repeat</i>
WKY	<i>Rat Wistar-Kyoto</i>
11 β HSD2	11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2

Remerciements

Tout d'abord, j'aimerais remercier mes parents pour m'avoir transmis détermination, curiosité et soif d'apprendre. Merci pour votre support et votre encouragement si essentiels tout au long de mes études.

Ensuite, merci au filles du laboratoire : Julie Roy, Annie, Julie Dutil, Vikki, Ana, Anita et Myrian. Je vous ai cotoyé quotidiennement pendant ces deux années, et j'ai eu énormément de plaisir à travailler à vos côtés. Merci pour votre présence, votre soutien et votre aide indispensable, je l'ai beaucoup apprécié et je ne sais pas ce que j'aurais fait sans vous!

Finalement, un merci particulier à mon directeur de recherche, Alan Y. Deng, pour m'avoir aidé et guidé dans ce projet. Sa grande disponibilité, son attention constante et ses conseils essentiels ont été des atouts précieux.

Merci encore à tous!!!

Introduction

Chapitre 1 - Hypertension

1.1 La pression sanguine

L'hypertension est causée par une pression sanguine trop élevée, ce qui cause des dommages aux vaisseaux sanguins. La pression sanguine est la force hydrostatique que le sang exerce contre la paroi des vaisseaux. Chaque cycle de l'activité cardiaque comprend deux phases alternantes, la systole et la diastole¹. Au moment de la systole, le muscle cardiaque se contracte et les cavités du cœur propulsent le sang, infusant les organes avec de l'oxygène et des nutriments. À chaque contraction du cœur, 70 ml de sang est propulsé dans le système artériel systémique, il s'agit du volume systolique. Au cours de la diastole, les ventricules se remplissent. La systole et la diastole ont chacune une durée d'environ 0,4 secondes chacune, produisant un pouls de 65 à 80 battements par minute. Le débit cardiaque, c'est-à-dire le volume sanguin éjecté par le cœur à chaque minute, varie selon la fréquence cardiaque et le volume systolique.

La pression sanguine est beaucoup plus grande dans les artères que dans les veines, et atteint un maximum dans les artères durant la systole, lors de la contraction du cœur, il s'agit alors de pression artérielle systolique. Les variations de pression sanguine dépendent du débit cardiaque et du degré de résistance périphérique à l'écoulement sanguin. Si le volume de sang est plus grand, et que la résistance vasculaire est plus grande, la pression augmente.

La pression sanguine est mesurée en deux parties : systolique et diastolique. La pression systolique correspond à la pression exercée par le sang sur les parois tout de suite après la contraction du cœur. La pression diastolique correspond à la pression sur les parois après le passage du sang. Un résultat de pression sanguine est présenté : pression systolique/pression diastolique. L'unité de mesure est le millimètre de mercure (mmHg). Une pression optimale se situe autour de 120/80 mmHg.

Dans la paroi des artérioles, on retrouve des muscles lisses ; la contraction de ces muscles comprime les artérioles, accroît la résistance et, par conséquent, augmente la pression artérielle. Lorsque les muscles se relâchent, les artérioles se dilatent et la

pression artérielle chute. Les muscles des artéριοles obéissent à des nerfs, des hormones et à d'autres messagers. Le stress physique ou émotionnel peut élever la pression sanguine en déclenchant des réactions nerveuses et hormonales qui compriment les vaisseaux sanguins. Plusieurs mécanismes contrôlent la pression sanguine. Des barorécepteurs situés dans les vaisseaux sanguins détectent les grands changements de pression et envoient l'information au cerveau. Des facteurs produits par les vaisseaux sanguins influencent la rigidité artérielle et cause une vasodilatation (ex. oxyde nitrique) ou une vasoconstriction (ex. endothéline). Des peptides natriurétiques produits par le cerveau et le cœur en réponse à une élévation de pression dans ces organes, s'opposent à l'action de vasoconstriction de l'angiotensine et de l'endothéline, et la réabsorption de sodium déclenchée par le système rénine-angiotensine². Le système kinine-kallikréine affecte la rigidité vasculaire et le contrôle du sel rénal. Le système de récepteurs adrénergiques influence le rythme cardiaque, la contraction cardiaque et la rigidité vasculaire.

Les reins jouent un rôle essentiel dans le contrôle de la pression sanguine. Lorsque le niveau de sel absorbé augmente, il y a une augmentation du volume extracellulaire et du volume plasmatique. Cette augmentation induit une élévation de la pression sanguine, ce qui augmente le volume systolique. Éventuellement, l'autorégulation de plusieurs systèmes résulte en une augmentation de la résistance périphérique, ramenant le volume systolique à la normale. L'augmentation de la résistance périphérique peut être substantielle, menant à une hypertension. Des reins normaux minimisent ces élévations de fluide extracellulaire et de volume systolique dus au sel, et ainsi minimise les élévations de pression sanguine³.

1.1.1 Système rénine-angiotensine (RAA)

Le système RAA (figure 1) est vital au maintien de la pression artérielle, de l'homéostasie du volume vasculaire et de la balance d'électrolytes, spécialement lors de perte de fluides ou de baisses de pression. La rénine a été isolée pour la première fois en 1898 à partir de reins de lapin, et décrite comme une substance influençant la pression⁴. Cette enzyme est relâchée dans la circulation par l'appareil juxtaglomérulaire du rein, sous le contrôle de multiples signaux, et elle agit sur l'angiotensinogène du foie. Suite au clivage de l'angiotensinogène par la protéase rénine, l'angiotensine I (Ang I) est généré. Ang I est converti en angiotensine II (Ang II) par l'enzyme de conversion de

l'angiotensine (ECA), une carboxypeptidase. L'Ang II est la principale hormone vasoactive du système RAA, et ses effets incluent la vasoconstriction, la stimulation de la sécrétion d'aldostérone et la réabsorption sodique par le rein. Le système RAA agit dans la circulation, mais il existe aussi dans plusieurs tissus et organes.

L'action de Ang II est effectuée à travers sa liaison à des récepteurs spécifiques (AT_1 et AT_2)⁵. Ces récepteurs font partie de la famille des récepteurs couplés aux protéines G, et sont exprimés dans plusieurs tissus, entre autres dans le rein, le cerveau et les glandes surrénales. Deux sous-types du récepteur AT_1 , AT_{1a} et AT_{1b} , ont été identifiés chez les rongeurs^{6,7}. Ces deux récepteurs sont le produit de deux gènes (*Agtr1a* et *Agtr1b*), et sont différemment exprimés et régulés^{8,9}. Il a été démontré que le récepteur AT_{1a} est surtout impliqué dans la régulation de la rigidité vasculaire en périphérie et de la réponse à la pression dans le système nerveux central (SNC)^{10,11}. Le récepteur AT_{1b} est requis pour la réponse dipsogénique à AngII dans le SNC¹².

Le système RAA agit en concert avec d'autres systèmes veillant au maintien de la pression et des fluides, comme le système nerveux sympathique. Il constitue une balance aux systèmes de vasodilatation comme les peptides natriurétiques produits par le cœur. Chez une majorité de patients souffrant d'hypertension essentielle, la pression artérielle baisse lors d'un traitement avec des inhibiteurs de ECA ou des antagonistes de récepteurs d'Ang II. Mais la pression artérielle baisse aussi avec certains traitements qui activent le système RAA. Donc, même s'il est clair que le système RAA joue un rôle dans la pression sanguine, il ne constitue pas la cause primaire de l'hypertension ni le seul déterminant de la pression artérielle dans l'hypertension essentielle¹³.

Tous les systèmes régulant la pression sanguine agissent ensemble de façon complexe. Le rôle de ces systèmes a été établi dans des réponses homéostatiques à court terme. Il est difficile de déterminer si ces voies contribuent à la détermination de la pression sanguine à long terme. Étant donné que la pression sanguine doit être mesurée chez des organismes vivants intacts où tous ces systèmes interagissent de façon complexe, il est difficile de distinguer les altérations primaires au système des réponses adaptatives secondaires.

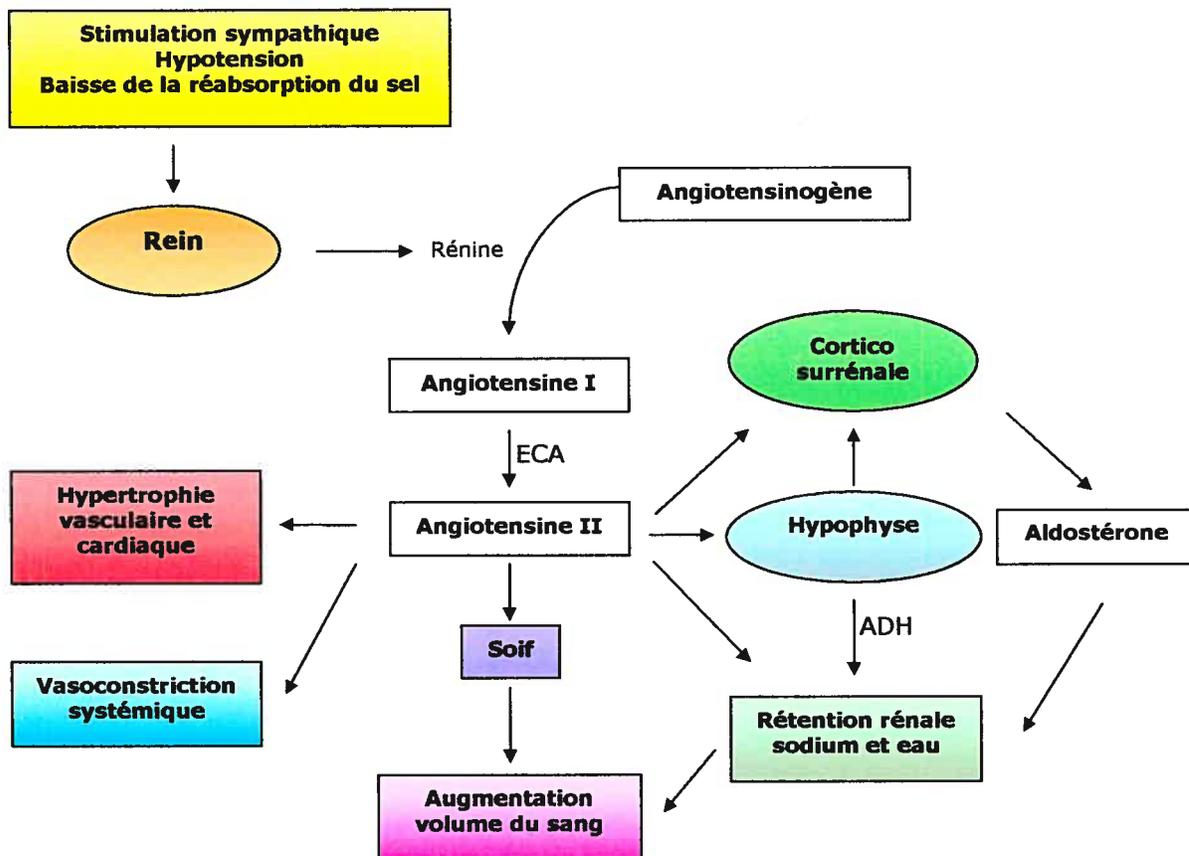


Figure 1 Système rénine-angiotensine (RAA)

1.1.2 La pression sanguine, un trait quantitatif et polygénique

La pression sanguine constitue un trait quantitatif. Un trait quantitatif est un trait qui varie continuellement. Cette variation naturelle est présente dans toutes les populations eucaryotes et est causée par des facteurs environnementaux et génétiques. Plusieurs traits biologiques sont quantitatifs, comme le poids corporel, la grandeur, la résistance aux maladies des plantes et animaux, les rendements en agriculture et le contenu en huile de certaines graines.

Malgré le fait que plusieurs maladies humaines soient transmises comme traits mendéliens ou associées à des anomalies chromosomiques, la plupart des maladies adultes (diabète insuline-dépendant, hypertension, schizophrénie) et la plupart des malformations congénitales communes (bec de lièvre, défauts du tube neural) ne le sont pas. Des facteurs génétiques joueraient un rôle important dans leur étiologie. La

prédisposition génétique à la maladie reflète un effet cumulatif de variations génétiques à plusieurs loci, ayant chacun un effet relativement minime sur le phénotype. Il s'agit d'un trait polygénique lorsqu'il est causé par l'impact de différents gènes, et multifactoriel s'il résulte en l'interaction de facteurs environnementaux avec de multiples gènes¹⁴.

La composante génétique des traits quantitatifs est souvent due à des effets cumulatifs de plusieurs loci sur le phénotype. Les loci qui contrôlent un trait quantitatif sont appelés QTL (quantitative trait loci). Le terme *QTL* est utilisé pour décrire une grande région chromosomique pouvant contenir un ou plusieurs loci contrôlant le trait quantitatif, mais peut aussi référer spécifiquement à un locus génétique individuel participant au contrôle du trait¹⁵.

Un trait quantitatif comme la pression sanguine est distribué de façon continue dans la population, suivant une distribution normale (Gaussien). Afin d'expliquer cette distribution, prenons l'exemple de deux loci indépendants, A et B, qui affectent la pression systolique. Chacun d'eux possède deux allèles A et a, et B et b, distribués dans la population également ($p=q=0,5$). En assumant que la population est en équilibre de Hardy Weinberg, les trois génotypes à chaque locus (AA,Aa,aa, et BB,Bb,bb) vont être distribués respectivement selon un ratio de $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ et $\frac{1}{4}$. Assumant que l'allèle majuscule (A ou B) contribue d'une unité (augmentation de 10 mmHg) au trait quantitatif hypothétique (pression systolique au-dessus de 100 mmHg), et que l'allèle minuscule (a ou b) contribue de zéro unité. Alors, la distribution du trait dans la population s'approchera d'une distribution normale (figure 2). Plus il y a de différents loci génétiques individuels contribuant au trait ou plus ces loci sont polymorphiques, plus la distribution du trait suivra une courbe normale. Les effets des facteurs environnementaux peuvent modifier la forme de la distribution des fréquences¹⁶.

Cet exemple, en apparence un modèle continu de distribution d'un trait quantitatif, peut aussi représenter la sommation de plusieurs phénotypes différents, donc la composition de plusieurs distributions qui se chevauchent.

En considérant la base génétique de maladies multifactorielles, il est important de souligner que ce n'est pas la maladie qui est déterminée génétiquement, mais la susceptibilité à la maladie. Un individu génétiquement susceptible peut ou non développer la maladie, dépendamment de l'interaction de plusieurs facteurs

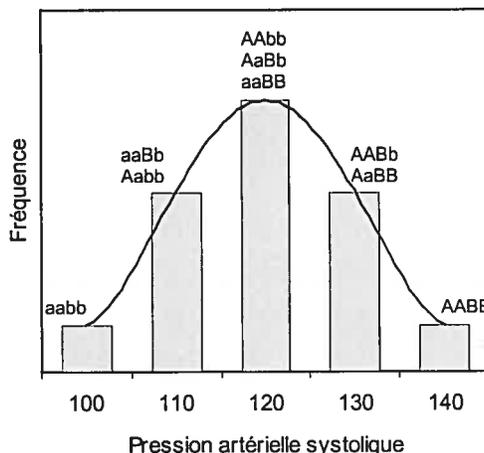


Figure 2 Distribution de fréquence de la pression artérielle systolique déterminée par un modèle de deux loci/deux allèles.

Adapté de *Principles of medical genetics*¹⁶.

génétiques et environnementaux. Ensuite, des arrière-plans génétiques différents peuvent causer une susceptibilité à la même maladie, donc l'étiologie de maladies communes multifactorielles est génétiquement hétérogène. Par exemple, les facteurs de risque pour les maladies coronariennes incluent l'hypertension, le diabète et l'hyperlipidémie, et chacun d'eux possède ses propres facteurs de risque génétiques et environnementaux¹⁶.

Jusqu'à la venue de la biologie moléculaire et le développement d'un grand nombre de marqueurs génétiques, la dissection des traits quantitatifs en composantes individuelles était impossible sauf dans des organismes modèles comme *Drosophila melanogaster*, qui ont des propriétés génétiques uniques¹⁵. Aujourd'hui, plusieurs technologies sont disponibles pour disséquer des traits complexes comme le contrôle de la pression sanguine.

1.2 Hypertension

Lorsque la tension artérielle est élevée, c'est que la circulation du sang dans les artères est difficile. On parle d'hypertension lorsque le patient démontre une élévation de pression chronique, au-dessus de 140/90 mmHg. Une mesure exacte de la pression sanguine est difficile à obtenir étant donné que la pression varie beaucoup à court terme. Les mesures prises à la maison peuvent être plus fiables que celles prises en présence

du médecin, car celui-ci peut causer un stress et le patient démontre alors une pression élevée uniquement en sa présence.

1.2.1 Épidémiologie

L'hypertension est une maladie très présente dans notre société. Elle affecte 50% des gens âgés de 65 ans et plus. De plus, une personne de 55 ans avec une pression sanguine normale a 90% des chances de développer de l'hypertension au cours de sa vie¹⁷. Selon le NHANES (*Third National Health and Nutrition Examination Survey*), seulement 53,6% des hypertendus sont traités et 27,4% des patients traités le sont efficacement (pression de moins de 140/90mmHg)¹⁸. De plus, l'hypertension constitue un facteur de risque pour plusieurs causes de morbidité et mortalité incluant l'accident cérébro-vasculaire (ACV), l'athérosclérose, l'infarctus du myocarde, l'insuffisance cardiaque et des maladies rénales avancées¹⁹⁻²¹.

Malgré le fait que l'hypertension soit un facteur important pour plusieurs maladies cardiovasculaires et rénales, et qu'elle affecte un grand nombre de personnes, les causes de la maladie et les mécanismes qui la contrôlent restent encore aujourd'hui relativement peu connus.

1.2.2 Hypertension chez les femmes

Peu importe l'âge, les femmes ont en moyenne une pression artérielle plus faible que celle des hommes. Avant 40 ans, elles ont un pouls plus faible que celui des hommes, et plus élevé en haut de 40 ans²². Ceci est dû à la plus petite stature des femmes et à un débit cardiaque plus élevé. À la ménopause, la perte d'œstrogène ne déclenche pas une élévation dramatique de la pression sanguine, mais une augmentation de la rigidité de la paroi des vaisseaux qui cause une élévation graduelle de la pression artérielle, qui se produit plus rapidement que chez les hommes²³.

La pression systolique augmente avec l'âge, alors que la pression diastolique atteint un plateau autour de l'âge de 60 ans. Chez les adultes des deux sexes, cette dernière a même tendance à diminuer une fois le plateau atteint²⁴. Les deux sexes montrent la même incidence d'hypertension²⁵. La prise d'hormone post-ménopause ne constitue pas une mesure préventive contre l'hypertension, mais le changement

d'hormones est important pour le mécanisme de l'hypertension chez la femme. En raison d'une réponse moins positive aux médicaments anti-hypertensifs chez la femme, la recherche sur l'hypertension est primordiale, et un traitement spécifique au sexe devra éventuellement être élaboré²⁴.

1.2.3 Hypertension secondaire

L'hypertension secondaire est l'effet d'une autre maladie. Plusieurs maladies peuvent causer une hypertension. Par exemple, en cas de néphropathie parenchymateuse, il se produit une rétention de sodium excessive et un tonus vasoconstricteur dépendant du système rénine-angiotensine et du système sympathique inadapté à la rétention sodée²¹. Ceci cause une hypertension artérielle.

L'hypertension réno-vasculaire est liée à une maladie des artères rénales à l'origine d'une ischémie du rein situé en aval. L'hyper-réninisme lié à l'ischémie rénale en aval de la sténose provoque une activation de Ang II, puissant vasoconstricteur. L'autre rein, sain, maintient la natriurèse et l'hyper-réninisme se perpétue²¹.

Le phéochromocytome est une tumeur médulo-surrénalienne sécrétant de la catécholamine qui s'accompagne d'une hypertension artérielle. Le phéochromocytome peut faire partie d'une néoplasie endocrinienne multiple ou d'une phacomatose (neurofibromatose de Recklinghausen et syndrome de Von Hippel-Lindau)²¹.

L'hyper-aldostéronisme démontre un excès de minéralocorticoïde. Sur le plan physiopathologique, ceci a deux conséquences majeures sur le tubule distal : Oréabsorption accrue de sodium entraînant une expansion du liquide extracellulaire, et stimulation de l'excrétion urinaire de potassium, responsable d'une hypokaliémie²¹.

1.2.4 Hypertension monogénique

L'hypertension monogénique est responsable d'approximativement 5% des cas d'hypertension et est considérée comme un trait unique, car elle démontre un mode de transmission mendélien. Un seul gène défectueux est responsable de la maladie et de ses grandes variations de pression sanguine. Plusieurs formes monogéniques

d'hypertension ont été caractérisées au niveau moléculaire, et tous ces gènes sont impliqués dans le mécanisme de la réabsorption de sel par les reins²⁶.

L'hyperaldostéronisme familial de type 1^{27,28} est une pathologie héréditaire rare de transmission autosomale dominante due à l'expression ectopique de l'aldostérone synthase dans la zone fasciculée de la glande surrénale. L'aldostérone interagit avec le récepteur minéralocorticoïde dans les cellules du tubule rénal et cause une plus grande activité des canaux calciques épithéliaux. Cette activation des canaux calciques augmente la rétention d'eau et de sel, ce qui a pour conséquence d'augmenter la pression. Le défaut moléculaire responsable de cette pathologie est un événement de recombinaison génétique sur le bras long du chromosome 8 entraînant une duplication-fusion entre la partie 5' du gène de la 11 β -hydroxylase et la partie 3' du gène de l'aldostérone synthase, deux gènes très similaires (93%) impliqués dans la synthèse de stéroïde surrénal. Le gène hybride possède ainsi la partie promotrice du gène de la 11 β -hydroxylase, sensible à l'hormone adrénocorticotropique (ACTH), et la partie codante du gène de l'aldostérone synthase. Ceci conduit à une synthèse surrénalienne excessive, contrôlée par l'ACTH plutôt que par Ang II.

L'excès apparent de minéralocorticoïdes²⁹ se manifeste par une hypertension artérielle le plus souvent sévère, débutant généralement dans l'enfance. Il s'agit d'une pathologie rare, héréditaire, de transmission autosomale récessive, en rapport avec un déficit en 11 β -hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2 (11 β HSD2). Cette enzyme permet la conversion du cortisol actif en cortisone inactive. Or le cortisol a une affinité importante pour le récepteur des minéralocorticoïdes. Lorsque l'enzyme est déficiente, le cortisol sature ces récepteurs, aboutissant à un effet minéralocorticoïde important à l'origine de cette hypertension.

Le syndrome de Liddle^{30,31} est une affection autosomale dominante et est causée par un défaut dans la réabsorption du sodium. Chez les individus affectés, le canal sodique épithélial est activé de façon constitutive, ce qui crée une plus grande réabsorption de sodium et une élévation de la pression sanguine et une hypertension sensible au sel. Des mutations dans les gènes des sous-unités β et γ du canal sodique épithélial seraient responsables de cet effet.

Même si la cause des formes monogéniques d'hypertension est généralement attribuée à un seul gène, il est possible d'observer que des individus avec le même défaut génétique varient dans leur sévérité de la maladie. Ce phénomène est appelé pénétrance variable^{32,33}. Plusieurs facteurs pourraient être responsables de cette variation entre le génotype et le phénotype. Des facteurs environnementaux tel que la diète et la consommation de sel ont été suggérés. Aussi, l'hétérogénéité au locus pourrait être responsable, où plusieurs gènes peuvent causer la même maladie de façon indépendante. Une autre possibilité est la variation allélique, où plusieurs allèles du même gène peuvent causer le même trait. Les différentes mutations d'un même gène codant pour une enzyme peuvent affecter chacune différemment l'activité de l'enzyme, et ainsi créer une pénétrance variable. Par exemple, des mutations ont été trouvées dans les gènes codant pour les sous-unités du canal sodique épithélial, le même canal qui est muté dans le syndrome de Liddle, et ces mutations peuvent causer une forme autosomale récessive d'hypotension appelée pseudo-hypoaldostéronisme type 1 (PHA1)³⁴.

1.2.5 Hypertension essentielle

L'hypertension essentielle constitue la grande majorité des cas d'hypertension, il s'agit d'une forme multifactorielle de la maladie, qui implique des déterminants génétiques et environnementaux. L'hypertension essentielle est nommée ainsi parce qu'on croyait auparavant que cette élévation de pression artérielle avec l'âge était normale, afin de permettre la circulation dans des artères durcis.

Le risque d'hypertension tend à se concentrer dans certaines familles et une forte agrégation familiale de la pression sanguine est observée dans pratiquement toutes les populations étudiées³⁵. Étant donné qu'une famille ne partage pas uniquement ses gènes mais aussi son environnement, il est difficile de départager ces deux influences. De plus, la pression sanguine constitue un trait complexe et le phénotype clinique de pression élevée peut être observé parmi une variété de mécanismes pathophysiologiques. Il peut être difficile d'évaluer systématiquement les procédés physiologiques dissimulés derrière une variation de pression sanguine observée³⁶.

L'hypertension essentielle démontre une agrégation familiale sans pour autant être transmis de façon mendélienne. Plusieurs facteurs contribuent à la complexité de la

transmission de l'hypertension essentielle. Il a été établi à l'aide d'études d'agrégation et d'études de jumeaux identiques³⁷ que l'héritabilité génétique contribue à environ 30% de la variation de la pression sanguine dans la population³⁸. Une étude a mesuré la corrélation de la pression sanguine chez des familles où certains de leurs enfants ont été adoptés, afin de départager l'influence de l'environnement des déterminants transmis génétiquement³⁹. Cette étude a clairement démontré que la corrélation de la pression sanguine est plus grande lorsque la mère et l'enfant, ou deux enfants, sont reliés.

Il est maintenant accepté que ce type d'hypertension soit polygénique, c'est-à-dire causé par des interactions entre plusieurs gènes. L'hypertension essentielle serait déterminée par l'interaction entre quelques gènes majeurs ou plusieurs gènes mineurs. Selon les combinaisons de gènes, différentes interactions modulent la détermination de la pression sanguine, et l'hétérogénéité génétique influence ces interactions.

La plupart des traits qui ont un impact significatif sur la santé de la population impliquent plusieurs gènes, qui interagissent entre eux et sont influencés par des facteurs environnementaux. Les formes de maladies très rares impliquent le plus souvent un seul gène, tandis que les formes de maladies plus communes seraient soumises à une fine régulation d'une multitude de gènes. De plus, cette régulation pourrait varier d'un individu à l'autre, selon le variant hérité. Ceci rend la tâche d'identification des causes exactes de l'hypertension essentielle beaucoup plus difficile.

1.3 Hypertension et environnement

L'hypertension constitue toujours une maladie épidémique car la grande majorité des personnes susceptibles d'en souffrir continue d'être exposé aux facteurs environnementaux responsables. De nombreux facteurs environnementaux sont associés à l'hypertension : l'âge, l'hérédité familiale, l'obésité, la consommation de sel et d'alcool, et l'activité physique. L'hypertension affecte 15-20% de la population industrialisée, tandis que chez plusieurs sociétés traditionnelles, non occidentales et non industrialisées, on retrouve une faible prévalence d'hypertension⁴⁰.

Les recommandations pour la prévention et le traitement de la pression sanguine élevée insistent sur une modification du mode de vie. Des changements de mode de vie à long terme qui abaissent la pression sanguine comprennent la perte de poids, une réduction de la consommation de sel, une augmentation de l'activité physique et une consommation d'alcool limitée^{41,42}. De plus, il existe le régime DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*), qui abaisse la pression sanguine à l'aide d'un régime riche en fruits et légumes, produits laitiers faibles en gras, et réduit en gras total et saturé⁴³.

Dans la pathogenèse de traits complexes comme la pression sanguine, les facteurs environnementaux ne sont pas seulement additifs aux facteurs génétiques⁴⁴. L'effet d'une variation allélique de tout gène dépend de l'environnement où ce gène est exprimé. Cet environnement peut être spécifique à un temps ou être l'accumulation d'expériences environnementales durant la vie d'un individu⁴⁵. L'environnement peut influencer le phénotype en stimulant l'expression d'un gène ou en interagissant avec le produit du gène. Par exemple, une diète à haute teneur en sel modifie l'expression du gène de la rénine, ce qui mène à l'augmentation de l'excrétion de sodium et donc la prévention de l'effet hypertensif causé par l'ingestion de sel⁴⁶.

1.3.1 Sensibilité au sel

Le contenu en sel de notre diète est un facteur environnemental important dans la régulation de la pression sanguine²⁶. Il a été observé que la prévalence de l'hypertension est faible dans certaines sociétés primitives avec une diète à faible teneur en sel⁴⁷. Vers les années 1940, il a été démontré qu'une diète très faible en sel peut réduire la pression sanguine chez certains patients atteints d'hypertension sévère. En effet, chez certains patients (20 à 40%), une diète à faible teneur en sel peut les aider à mieux contrôler leur pression sanguine⁴².

Des sujets humains normotendus et hypertendus sont sensibles ou résistants aux effets d'augmentation de la pression sanguine due au sel⁴⁸. De plus, des patrons différents de rythme circadien de la pression sanguine sont observés dépendamment si la diète à haute teneur en sel est administrée à des sujets sensibles ou résistants au sel. Chez des sujets hypertendus, ceux étant sensibles au sel ont une élévation de la pression sanguine sur 24 heures, mais les sujets résistants au sel ont une pression

sanguine relativement haute uniquement durant la période de sommeil. Ensuite, il a été démontré que des patients hypertendus afro-américains ont plus de chance d'être sensibles au sel que leurs vis à vis caucasiens, et qu'ils ont plus tendance à développer des maladies rénales reliées à l'hypertension²¹. Les reins ont été suggérés comme jouant un rôle central dans la pathogenèse de la sensibilité au sel de la pression artérielle. Il a aussi été démontré que la sensibilité au sel pouvait être modifiée par la présence dans la diète d'autres ions. Donc, un supplément en Ca^{2+} produit une baisse significative de la pression artérielle chez des rats spontanément hypertendus. Cet effet est maximal lorsque ces rats sont sensibles au sel et nourris d'une diète à haute teneur en Ca^{2+} et en Na^+ . Parallèlement, une atténuation de la sensibilité au stress a été observée par un changement de la température du corps durant l'immobilisation de l'animal⁴⁹. La section 1.4 aborde plus en détails le rôle de ces ions dans l'hypertension.

1.3.2 Stress

Le stress est un facteur environnemental important dans le développement de l'hypertension. Il a souvent été observé que des sujets hypertendus et pré-hypertendus avec une histoire familiale positive d'hypertension ont une plus grande réponse de pression sanguine lorsqu'ils sont exposés à des stress mentaux et physiques que des sujets d'une descendance normotendue avec les mêmes niveaux basaux de pression sanguine⁵⁰. L'héritabilité de la réponse de la pression sanguine au stress, estimée pour des jumeaux monozygotiques et dizygotiques, est semblable à l'héritabilité de la pression sanguine basale⁵¹. Une exposition prolongée à un stress chronique élevé causerait à travers le temps une adaptation anatomique dans le cœur et les vaisseaux et contribuerait à maintenir une pression sanguine élevée⁵².

Plusieurs gènes de réponse au stress pourraient être impliqués dans la susceptibilité environnementale à l'hypertension chez le rat, incluant *hsp70* et *tnfa*. La température et l'immobilisation de l'animal ont été associées à des changements dans la pression sanguine et dans l'expression de ces gènes^{53,54}.

1.3.3 Obésité

L'association entre l'obésité et l'hypertension est très bien documentée, et il a été démontré que la pression sanguine est reliée de près au poids corporel^{55,56}. Cette relation est valide pour des populations variées et est confirmée chez les enfants et adolescents comme chez les adultes. En fait, la prévalence de l'hypertension chez l'adulte augmente avec l'augmentation du poids corporel⁵⁷. Cet effet est dû en partie aux facteurs de risque reliés à l'obésité, l'hyperlipidémie et le diabète mellitus, mais l'obésité contribue aussi de façon indépendante au risque cardiovasculaire⁵⁸. Il a été observé qu'une diminution de la quantité de gras viscéral intra-abdominal est reliée à une réduction de la pression sanguine chez des patients obèses et hypertendus⁵⁹.

1.4 Membrane plasmique et transport d'ions

À la base, l'hypertension essentielle est créée par un déséquilibre entre la résistance périphérique des vaisseaux et le volume sanguin. Les mécanismes responsables sont la régulation de la contractilité des cellules du muscle lisse vasculaire dans les artères formant la résistance et la régulation du volume de fluide extracellulaire. Il a été démontré que la réponse des cellules musculaires lisses dans les vaisseaux joueraient un rôle dans la régulation de la pression sanguine⁶⁰.

La résistance périphérique et la régulation du volume extracellulaire peuvent être reliés à la membrane plasmique qui sépare les espaces intracellulaire et extracellulaire. La structure et la fonction de cette membrane jouent un rôle clé dans la pathogenèse de l'hypertension.

La membrane plasmique est constituée d'une couche bilipidique hydrophobe, de protéines, de glycolipides et de glycoprotéines. Il s'agit d'une structure dynamique, permettant le maintien de son individualité et son homéostasie, l'interaction avec les cellules adjacentes et, à l'aide de signaux spécifiques et de structures membranaires, avec l'organisme entier. La membrane plasmique présente une perméabilité sélective. Les molécules hydrophobes se dissolvent dans la membrane et la traversent aisément. Par contre, les ions (H^+ , Na^+) doivent utiliser des protéines de transport. La protéine de type uniport transporte un seul soluté à travers la membrane, le type symport déplace

deux différents solutés simultanément et dans la même direction et le type antiport transporte un soluté vers l'intérieur de la cellule et un autre vers l'extérieur (pompe Na^+/K^+).

La vitesse de transport des ions à travers la membrane plasmique dépend du nombre d'unités de transporteurs, l'affinité pour le type de transporteur et la vitesse de translocation, qui sont tous spécifiquement modulés par des signaux intracellulaires et extracellulaires⁶¹. La cascade du signal de transduction est activée par des signaux systémiques (hormones, molécules neurologiques) et des signaux locaux (molécules autocrine-paracrines comme les prostaglandines, oxyde nitrique, facteurs physiques comme l'étirement et le flux sanguin). Ces signaux interagissent avec des récepteurs spécifiques qui transduisent le signal à des complexes intracellulaires de voies biochimiques qui déclenchent de multiples réponses. La première étape implique des facteurs liés à la membrane (phospholipases, protéines G, protéines kinases), puis des seconds messagers cytoplasmiques (Ca^{2+} , cAMP, cGMP, oxyde nitrique), et finalement des facteurs nucléaires qui agissent sur la transcription de gènes. Certains facteurs de cette voie de transduction ont été étudiés afin d'élucider les causes du transport anormal d'ions dans l'hypertension, comme la protéine kinase C⁶², les protéines G⁶³ et la protéine kinase activée par mitogène (MAPK). De plus, l'aspect physique de la réponse cellulaire est étudié, comme un étirement de la membrane et de ses protéines, et son effet sur une protéine régulatrice du cytosquelette, l'adducine⁶⁴.

1.4.1 Rôle du sodium

Il existe une relation entre la consommation de Na^+ et le développement de l'hypertension chez certains modèles animaux et chez les patients souffrant d'hypertension sensible au sel. Le Na^+ cellulaire est augmenté chez plusieurs types cellulaires (érythrocytes, lymphocytes) dans l'hypertension essentielle. Ceci est dû soit à une augmentation de l'entrée ou à une diminution de la sortie de Na^+ . Le principal déterminant de cette distribution inégale de Na^+ entre les compartiments intracellulaires et extracellulaire est la pompe ATPase Na^+K^+ qui exporte trois ions Na^+ pour deux ions K^+ importés dans la cellule, en hydrolysant une molécule d'ATP à chaque échange. Ceci maintient une faible concentration intracellulaire de Na^+ et une haute concentration de K^+ . Cette distribution inégale est responsable des flux d'autres ions entre les compartiments. Il est possible que la pompe Na^+K^+ soit inhibée dans certaines formes d'hypertension

caractérisées par une trop grande quantité de Na^+ et d'eau et par la sécrétion de substances inhibitrices comme l'ouabain endogène⁶¹.

1.4.2 Stéroïdes cardiotoniques endogènes

Le premier rôle des stéroïdes cardiotoniques (SCT) est de faciliter la natriurèse à travers l'inhibition de la pompe ATPase Na^+K^+ dans les membranes basolatérales du rein⁶⁵. Cependant, une production excessive de SCT peut aussi inhiber l'ATPase Na^+K^+ des muscles lisses vasculaires et créer une vasoconstriction⁶⁶. Les SCT endogènes contribueraient à l'hypertension sensible au sel^{65,66}. L'importance critique de la consommation de sel dans la pathogenèse de l'hypertension est reconnue^{26,67,68}, mais le mécanisme par lequel cette surconsommation fait augmenter la pression artérielle reste inconnu. Récemment, les stéroïdes cardiotoniques, comme l'ouabain endogène⁶⁹ et autres stéroïdes⁷⁰⁻⁷², ont été proposés comme intermédiaires candidats. Chez l'humain, une diète salée chronique cause une augmentation en SCT plasmatiques⁷³⁻⁷⁵. En plus, environ 50% des patients souffrant d'hypertension essentielle démontrent des niveaux élevés d'ouabain endogène⁷⁶. Un niveau élevé de SCT est aussi détecté chez des animaux affectés d'hypertension sensible au sel^{69,75,77}. Un antagoniste de l'ouabain abaisse la pression sanguine chez ces rats hypertendus et chez certains patients atteints d'hypertension essentielle⁷⁸.

1.4.3 Rôle du calcium intracellulaire

Le calcium intracellulaire est un déterminant majeur de la contraction du muscle lisse vasculaire et un élément clé de la réponse cellulaire aux agonistes, agissant comme un second messager. Dans les cellules au repos, il est gardé constant par une variété de mécanismes médiés par des canaux et des pompes sodiques localisés dans la membrane plasmique et dans les organelles intracellulaires. Les composantes essentielles des mécanismes homéostatiques du Ca^{2+} sont l'ATPase Ca^{2+} plasmique, qui pompe le Ca^{2+} hors de la cellule, l'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX), qui sort le Ca^{2+} contre son gradient de concentration en échange avec du Na^+ qui entre avec son gradient de concentration, et l'ATPase Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique, qui séquestre le Ca^{2+} dans des organelles intracellulaires. Un équilibre entre ces mécanismes maintient une concentration intracellulaire de Ca^{2+} quatre fois plus faible que la concentration

extracellulaire. Chez les humains et les modèles expérimentaux souffrant d'hypertension, l'homéostasie du Ca^{2+} est affectée.

Les SCT inhibent l'ATPase Na^+K^+ de la membrane plasmique, menant à une augmentation de Na^+ cytosolique. Cette accumulation cellulaire de Na^+ augmente la concentration de Ca^{2+} cytosolique à travers NCX et augmente ainsi la contraction dans le muscle vasculaire ou cardiaque.

Il a été démontré que le mode d'entrée du Ca^{2+} à travers l'échangeur NCX de type 1 (NCX1) vasculaire est impliqué dans la régulation contractile des petites artères et dans le développement d'hypertension sel-dépendante⁶⁰. Lorsque les SCT inhibent l'ATPase Na^+K^+ dans les cellules du muscle lisse vasculaire, l'élévation de Na^+ local dans la zone submembranaire facilite l'entrée de Ca^{2+} à travers NCX1, résultant en une vasoconstriction (figure 3). Ceci a été démontré à l'aide d'un inhibiteur de NCX (bloquant l'entrée de Ca^{2+}) qui réussit à baisser la pression artérielle chez plusieurs modèles d'hypertension sel-dépendante. Cet inhibiteur n'affecte pas la pression chez des modèles normotendus ou hypertendus non sensibles au sel. Aussi, cet inhibiteur renverse la vasoconstriction et l'hypertension induites par l'ouabain endogène, ce qui pourrait faciliter l'entrée de Ca^{2+} à travers NCX, dû à une concentration élevée de Na^+ cytosolique, sans que l'inhibiteur n'affecte directement l'activité de l'ATPase Na^+K^+ .

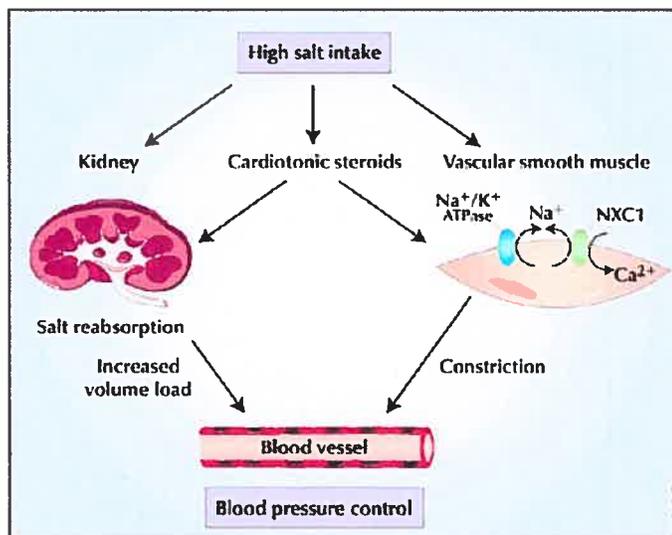


Figure 3 Rôle de l'échangeur NCX1 dans l'hypertension sensible au sel⁷⁹

Une diète riche en sel peut altérer la réabsorption nette de sel ou augmenter les niveaux de stéroïdes cardiotoniques dans le sang. Une plus grande réabsorption de sel augmente la

réabsorption d'eau afin de maintenir une concentration stable de sodium dans le sang. Le volume ainsi augmenté élève la pression sanguine. Une diète riche en sel augmente aussi les molécules qui inhibent l'ATPase Na^+K^+ . Des concentrations locales élevées de sodium pourraient engager NCX1 et faciliter l'entrée de calcium. À travers l'action de NCX1, la rigidité vasculaire et la pression sanguine augmentent.

1.5 Traitements contre l'hypertension

Plusieurs dizaines de médicaments ont été développés pour traiter l'hypertension (tableau I). Parmi les plus utilisés, on distingue les diurétiques, les antagonistes des récepteurs adrénergiques α et β , les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), les antagonistes du récepteur AT_1 de Ang II, les inhibiteurs d'entrée de calcium et les agents agissant sur le SNC. Très souvent, une combinaison de quelques-uns de ces médicaments est nécessaire pour abaisser suffisamment la pression sanguine.

Tableau I Médicaments anti-hypertension

Classe de médicament	Cible	Effet
Inhibiteurs ECA	Enzyme ECA	(-) système rénine-angiotensine
Antagonistes récepteur AT_1	Récepteur AT_1	(-) système rénine-angiotensine
Antagonistes récepteur α	Récepteur adrénergique α_1	(-) résistance vasculaire périphérique
Antagonistes récepteur β	Récepteurs adrénergiques β (β_1 et β_2)	(-) rythme cardiaque (-) rénine (-) résistance vasculaire périphérique
Inhibiteurs calciques	Transporteurs de calcium	(-) cellules myocardiques (-) résistance vasculaire périphérique
Agent agissant sur le SNC	Récepteur adrénergique α_2 Récepteur imidazoline I_1	(-) activité nerveuse sympathique (-) norépinéphrine (-) résistance vasculaire périphérique
Diurétiques	Tubules rénaux	(+) excrétion du sodium

Un traitement contre l'hypertension s'accompagne d'une réduction importante des ACV mortels et non mortels, et de façon plus subtile mais significative, une réduction d'événements coronariens⁸⁰. Toutefois, les patients hypertendus traités courent un risque plus élevé de morbidité liée à des complications cardiovasculaires que des sujets normotendus du même âge et du même sexe.

Une étude a analysé la mortalité chez des patients hypertendus traités à la *Glasgow Blood Pressure Clinic*⁸¹. Chez environ 4000 patients souffrant d'hypertension essentielle, la mortalité a été comparée à celle de deux populations témoin près de Glasgow durant une période de 6,5 années. La mortalité des patients hypertendus traités était de 2 à 5 fois plus élevée que celle des populations normales. Malgré le traitement, la pression sanguine chez les patients traités était restée plus élevée que chez les sujets normotendus, et l'effet bénéfique du traitement était plus grand chez les patients où la pression était la plus réduite. Ceci suggère qu'une pression sanguine insuffisamment réduite soit la cause du haut taux de mortalité et de morbidité retrouvé chez les patients hypertendus. De plus, les patients hypertendus ont plus souvent des organes endommagés et d'autres facteurs de risques associés.

Malgré tout, de nombreuses études cliniques qui ont comparé un traitement anti-hypertension avec un placebo ont démontré que le traitement à l'aide de médicaments est bénéfique⁸².

Chapitre 2 - Approche génétique

2.1 Stratégie

Il est aujourd'hui clair que l'hypertension essentielle est une maladie polygénique et héréditaire. Étudier les bases génétiques de l'hypertension se révèle ardu, car il y a assurément plusieurs gènes qui auraient chacun un effet minime sur la pression sanguine. La population humaine est génétiquement hétérogène. Chaque individu possède une version particulière de chacun de ses gènes, et la combinaison de ces versions rend chaque personne unique. Ce phénomène complique la recherche de gènes responsables d'un trait complexe. Étant donné que chaque individu possède une interprétation différente des gènes, il est difficile de déceler une petite différence dans le génome déjà très varié d'une population humaine. Deux principales stratégies sont utilisées afin d'étudier les bases génétiques d'une maladie complexe comme l'hypertension essentielle : l'analyse de liaison génétique et l'étude d'association⁸³.

2.1.1 Analyse de liaison génétique

L'analyse de liaison génétique est une méthode commune de cartographie génétique. Elle est basée sur le fait qu'un marqueur situé à proximité d'un locus causant une maladie et ce même locus vont se suivre lors de la ségrégation des chromosomes chez les individus affectés. Un locus marqueur est évalué en utilisant les polymorphismes de l'ADN. Les deux types de polymorphismes d'ADN les plus utilisés sont le RFLP (*restriction fragment-length polymorphism*) et le VNTR (*variable-number tandem repeat*). Le RFLP est le résultat de différences entre les individus dans le nombre de sites de reconnaissance pour une enzyme de restriction au locus du marqueur. Le VNTR constitue une séquence de nucléotides répétée en nombre variable entre les individus. Cette séquence peut être courte (microsatellites et SSLP-*simple sequence length polymorphism*) ou longue (minisatellites). Afin de déterminer de quel polymorphisme a hérité un individu, il est possible de détecter les répétitions et leurs différentes longueurs par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) et électrophorèse sur gel. Lors d'études de liaison génétiques, les marqueurs microsatellites sont les plus utilisés.

Plus un locus marqueur et le locus causant la maladie sont près l'un de l'autre, moins il y aura de recombinaison entre eux, et plus ils voyageront souvent ensemble. Lorsque ces deux loci se suivent lors de la ségrégation de façon plus fréquente que le hasard, ils sont considérés comme étant liés. Cette liaison est quantifiée à l'aide d'un *LOD score*, qui est une mesure de la probabilité du lien entre le locus et la maladie. Généralement, un *LOD score* de 3 est considéré comme significatif et indique une probabilité de $p < 0,05$ de liaison entre deux loci^{84,85}.

Les résultats d'analyse de liaison génétique se présentent sous forme de tableau ou de graphique, où la courbe représente le *LOD score* à chacun des marqueurs testés au long du chromosome. Lorsqu'un pic significatif est observé, la région démontrant le *LOD score* élevé contient un QTL (*quantitative trait locus*), si le trait est quantitatif. La localisation de QTL par liaison génétique détermine un intervalle chromosomique de 20 à 30 cM⁸⁶. Il s'agit d'une très grande région et une autre méthode doit être utilisée pour confirmer le QTL et réduire le nombre de gènes candidats. Aussi, il est possible qu'il y ait plusieurs QTLs sur le même chromosome. Si la distance qui sépare deux QTLs est supérieure à 80 cM, ceux-ci peuvent ségréguer de manière indépendante¹⁵, ce qui peut être observé par deux pics sur le graphique. Par contre, si la distance entre deux QTLs est inférieure à 80 cM, la courbe n'indiquera qu'un seul pic, et la présence de plusieurs QTLs sera indétectable.

L'analyse de liaison génétique est le plus utile lors d'études de maladies impliquant un seul gène, comme les formes monogéniques d'hypertension. Dans ces études, un modèle de transmission mendélienne est utilisé en suivant un gène responsable à travers des familles affectées. Étant donné que les effets de ce gène sont présents ou absents chez les membres d'une famille, la co-ségrégation des allèles causant la maladie peut être détectée.

Ce type d'analyse est par contre plus difficile pour l'hypertension essentielle, qui est le résultat de plusieurs gènes. La contribution de chacun des gènes est plus faible, détecter un lien entre les allèles causant la maladie est plus difficile. On utilise alors des méthodes de détection de partage d'allèle, où on recherche des différences dans la fréquence des allèles dans des familles avec des individus affectés⁸⁷.

1. Analyse de paires de germains (*sib-pair*) affectés

Cette analyse mesure le degré de partage d'allèles chez des paires de germains qui ont tous deux la maladie. Normalement, la chance que deux enfants partagent un allèle est de 50%. Lorsque deux enfants malades partagent un allèle plus fréquemment que la normale, il y a un partage excessif d'allèles. Cet allèle peut servir de marqueur pour la maladie ou être le gène causant la maladie^{88,89}.

2. Analyse de paires de germains (*sib-pair*) discordants

Cette technique analyse la fréquence allélique chez des paires de germains comprenant un membre affecté et un membre non affecté. Dans ce type d'analyse, lorsqu'un allèle est présent dans un seul des germains, il est considéré comme étant relié au gène causant la maladie⁸⁷.

3. Analyse de famille étendue

Cette analyse est similaire à l'analyse de *sib-pair* affectés sauf que le partage excessif d'allèles est mesuré entre un individu affecté et un parent de second degré affecté (oncles, tantes et cousins)⁸⁷.

2.1.2 Études d'association

L'étude d'association est une méthode alternative de liaison génétique qui compare la fréquence allélique entre des individus affectés et non affectés. Si un allèle est retrouvé plus souvent chez des individus affectés que chez des individus sains, cet allèle est en déséquilibre de liaison avec un allèle causant la maladie. Étant donné que cette méthode utilise des individus non apparentés, il est plus facile de réunir un grand nombre d'échantillons. Cette méthode se concentre souvent sur des gènes candidats (voir section 2.2.1). En général, une étude cas/témoins possède un pouvoir statistique plus grand qu'une étude de liaison génétique, mais a une plus grande tendance à donner des résultats faux positifs⁹⁰.

2.2 Méthodologie

2.2.1 Approche par gènes candidats

L'approche par gènes candidats est une technique qui tient compte de connaissances sur la fonction de la protéine codée par un gène. Un gène candidat est habituellement impliqué dans les systèmes physiologiques ou biochimiques qui sont défectueux dans la maladie. Ce gène est alors analysé pour détecter des différences dans sa séquence d'ADN entre des individus affectés et non affectés. Ces différences peuvent affecter ou non l'expression du gène. Une analyse de liaison génétique ou une étude d'association peuvent être faites pour déterminer si certains polymorphismes dans la séquence du gène sont liés avec la maladie.

Plusieurs gènes candidats ont été étudiés afin de tenter de démontrer un lien avec hypertension essentielle. Une étude utilisant une population F_2 ségrégationnelle dérivée de rats S et R a indiqué la présence d'un RFLP dans le gène de la rénine qui serait lié aux variations de la pression sanguine dues au sel⁸⁸. Aussi, plusieurs allèles ont été identifiés dans le locus contenant la 11 β -hydroxylase stéroïde qui seraient liés à la sensibilité au sel dans l'hypertension⁹¹. Certains allèles d'un locus contenant le gène du récepteur à peptide natriurétique atrial (Gca) ont été reliés à la pression sanguine⁹². L'approche de gènes candidats a aussi été utilisée pour démontrer un rôle pour le gène de l' α -adducine dans l'hypertension essentielle⁹³. La ségrégation du locus de ECA avec la pression artérielle a été démontrée dans plusieurs croisements de rats⁹⁴, et le lien entre ECA et l'hypertension chez l'humain a été confirmé chez l'humain⁹⁵. Une évidence significative pour l'association entre le gène de l'angiotensinogène et l'hypertension a aussi été montrée⁹⁶.

Les études de gènes candidats se limitent à des gènes connus. De plus, il y a beaucoup de gènes candidats impliqués dans le contrôle de la pression artérielle, car il s'agit d'un trait influencé par de nombreux facteurs. Il est donc difficile de départager tous les candidats, et fastidieux de tous les étudier. Un autre aspect est à considérer lorsque la co-ségrégation entre un gène et un phénotype d'hypertension est démontrée : il faut tenir compte des autres gènes candidats qui peuvent se retrouver tout près et être responsables de l'effet observé sur la pression sanguine⁹⁷.

2.2.2 Criblage du génome entier

L'analyse du génome entier étudie la possibilité qu'un locus affectant un trait quantitatif (QTL) soit proche d'un locus marqueur. Des marqueurs polymorphiques sont analysés dans des populations affectées pour déterminer des polymorphismes qui suivent le trait d'intérêt pendant la co-ségrégation. Par la suite, les fragments d'ADN délimités par ces marqueurs sont évalués pour la présence de gènes candidats. Cette méthode a permis d'isoler des régions candidates sur plus d'une douzaine de régions chromosomiques chez l'humain, à partir desquelles plusieurs gènes candidats positionnels ont été isolés, comme le récepteur de Ang II, le récepteur adrénergique β_2 , le gène de la lipoprotéine lipase. Dans la majorité des cas, les régions isolées étaient différentes dans chaque étude. En fait, les polymorphismes peuvent être associés à un phénotype dans une population particulière et pas dans une autre, donc des différents gènes pourraient prédisposer à l'hypertension selon la population⁹⁰. L'aspect le plus difficile est encore de déterminer la causalité d'un gène spécifique, et d'éliminer le rôle des gènes voisins.

2.3 Modèles animaux génétiques pour l'hypertension

Il existe des modèles animaux développés spécialement pour représenter des maladies humaines comme l'hypertension. Un modèle animal atteint d'hypertension est moins complexe à utiliser. Contrairement à des sujets humains, une souche animale peut être croisée de façon à ce que seulement les différences dans les gènes liés à l'hypertension soient étudiées. Aussi, les modèles animaux peuvent être analysés dans un environnement contrôlé où plusieurs variables, comme la population et les conditions environnementales, sont prédéterminées⁹⁸.

2.3.1 Le rat

Malgré le fait que le rat est transporteur de dizaines de maladies et constitue une peste, il contribue à la santé humaine en testant des médicaments et en nous aidant à mieux comprendre la pathologie de maladies humaines. Le rat de laboratoire (*Rattus*

norvegicus) est originaire d'Asie centrale et son succès à travers le monde est sans contredit dû à sa relation avec l'homme⁹⁹. Il s'agit d'une des premières espèces de mammifère à être domestiquée pour la recherche scientifique, en 1828¹⁰⁰. Les premières études de génétiques avec le rat étudiaient la couleur de la fourrure comme trait à transmission mendélienne¹⁰¹.

Le génome du rat a été en grande partie séquencé, à l'aide de la souche *Brown Norway*¹⁰². Aujourd'hui, une deuxième version de la séquence du génome du rat est disponible (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). Le génome du rat (2,75 Gb) est plus petit que celui de l'humain (2,9 Gb) mais plus grand que celui de la souris (2,6 Gb). Les génomes du rat, de la souris et de l'humain possèdent un nombre similaire de gènes. Presque tous les gènes humains connus pour être associés à une maladie possèdent des orthologues chez le rat, mais leur taux de substitution synonyme est très différent de celui des autres gènes.

2.3.2 Souches consanguines pour l'hypertension

La majorité des souches de rats utilisées en recherche sont des souches consanguines et il existe aujourd'hui plus de 230 souches consanguines de *R. norvegicus*¹⁰³. Une souche consanguine est développée par croisements sélectifs afin de fixer un trait particulier, comme une maladie. On obtient ainsi une population génétiquement homogène, où les allèles sont identiques à tous les loci. En plus de l'hypertension, ces modèles génétiques sont utilisés pour des études sur le comportement, l'auto-immunité, le cancer, les maladies dentaires, le diabète, les désordres métaboliques, l'insuffisance rénale, la reproduction, les désordres squelettiques, ainsi qu'en ophtalmologie, hématologie, neurobiologie et toxicologie¹⁰⁴.

Afin de créer une souche consanguine pour l'hypertension, le processus débute avec la sélection d'animaux hypertendus à partir de souches non consanguines. Ces progéniteurs hypertendus sont croisés afin de produire la première génération (F₁). Les individus de la génération F₁ sont sélectionnés et croisés entre frère et sœur, pour donner la génération F₂. Ce processus continue jusqu'à ce que tous les rats soient hypertendus. Puis, les croisements frère-sœur se poursuivent afin d'obtenir une homogénéité génétique complète. À chaque étape de croisement consanguin, le degré d'homogénéité génétique augmente de 12,5%, et 20 générations (F₂₀) sont nécessaires

pour obtenir une souche totalement consanguine⁹⁸. Le même processus est effectué avec des souches normotendues, afin d'avoir une souche témoin. Il existe présentement plusieurs souches consanguines majeures pour étudier l'hypertension (tableau II). Chacune de ces souches provient de la sélection de progéniteurs selon leur pression sanguine élevée (souches hypertendues) ou non (souches normotendues).

Tableau II Lignées de rats développées sélectivement pour l'étude de l'hypertension

Souche normotendue ou hypertendue	Abrév.	Origine	Référence
<i>Genetically hypertensive</i>	GH	Dunedin, Nouvelle-Zélande	Smirk et Hall, 1958 ¹⁰⁵
<i>Dahl salt-sensitive</i>	S, DS, SS/Jr	Brookhaven, USA	Dahl et al., 1962 ^{106,107}
<i>Dahl salt-resistant</i>	R, DR, R/Jr		
<i>DOCA salt-sensitive (Sabra hypertensive)</i>	SBH	Jerusalem, Israël	Ben-Ishay et al., 1972 ¹⁰⁸
<i>DOCA salt-resistant (Sabra normotensive)</i>	SBN		
<i>Lyon hypertensive</i>	LH	Lyon, France	Dupont et al., 1973 ¹⁰⁹
<i>Lyon normotensive</i>	LN		
<i>Lyon low blood pressure</i>	LL		
<i>Spontaneous hypertensive rats</i>	SHR	Kyoto, Japon	Okamoto et Aoki, 1963 ¹¹⁰
<i>Spontaneous hypertensive rats – stroke prone</i>	SHRSP	Kyoto, Japon	Okamoto et al., 1974 ¹¹¹
<i>Milan hypertensive</i>	MHS	Milan, Italie	Bianchi et al., 1974 ¹¹²
<i>Milan normotensive</i>	MNS		
<i>Fawn-hooded hypertensive</i>	FHH	Utrecht, Pays-bas	Kuijpers et Gruys, 1984 ¹¹³
<i>Fawn-hooded low blood pressure</i>	FHL		
<i>Inherited stress induced arterial hypertensive</i>	ISIAH	Novosibirsk, Russie	Markel, 1985 ¹¹⁴
<i>Prague hypertensive</i>	PHR	Prague, République Tchèque	Heller et al., 1993 ¹¹⁵
<i>Prague normotensive</i>	PNR		

Tableau adapté de Rapp, J.P.¹⁵. Abrév. : abréviation.

2.3.3 Les rats Dahl *salt-sensitive* (S) et *salt-resistant* (R)

Le rat Dahl *salt-sensitive* a été développé comme modèle génétique pour l'hypertension induite par une diète riche en sel¹⁰⁶. Les rats S développent une hypertension avec une diète à faible teneur en sel, mais cette hypertension est exacerbée par une diète riche en sel. Lorsque ces rats sont nourris d'une diète très riche

en sel (8% NaCl), ils meurent tous avant 8 semaines^{107,116}. Simultanément, le rat Dahl *salt-resistant* a été développé comme contrôle normotendu. Ce rat ne développe pas d'hypertension lorsqu'il est nourri d'une diète riche en sel.

La transplantation des reins du rat S au rat R mène à l'hypertension lorsque le rat R transplanté est nourri d'une diète à haute teneur en sel. Tandis que la transplantation des reins du rat R au rat S prévient le développement de l'hypertension. Ces expériences ont démontré que le sel induit l'hypertension et qu'un défaut génétique du rat S est exprimé dans les reins¹¹⁷. Ce défaut est impliqué dans la capacité d'excrétion du sodium rénal, et ceci a été confirmé par une étude qui démontre une relation entre la natriurèse et la pression à l'aide de reins perfusés de rats Dahl S¹¹⁸.

Une augmentation systémique de la concentration de sel chez le rat R provoque une diminution de la résistance périphérique des vaisseaux sanguins de 14%. Dans les mêmes conditions, le rat S augmente sa résistance vasculaire de 9%¹¹⁹. Le rat S démontre des anomalies dans l'homéostasie du Na⁺ et du Ca²⁺, dans la régulation de l'ATPase Na⁺K⁺¹²⁰ et des pertes de Ca²⁺ rénal¹²¹. Il possède aussi une prédisposition à développer une insuffisance rénale progressive¹²². Les anomalies au niveau du rein comprennent une expansion mésangiale et au niveau tubulaire, une atrophie accompagnée d'une perte cellulaire par apoptose^{123,124}. De petites artères et artérioles proéminentes apparaissent au niveau des reins. Une augmentation de l'épaisseur des artères interlobaires et les artérioles préglomérulaires. Des analyses ont démontré un remodelage vasculaire chez les rats S, et une prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires¹²².

2.3.4 Souches normotendues

Il est toujours préférable de varier les souches normotendues utilisées lors d'études génétiques sur l'hypertension utilisant des rats. En effet, il existe d'autres souches de rats considérées comme normotendues, à part les souches contrastantes développées simultanément aux souches hypertendues. Ces souches ne démontrent pas de pression sanguine élevée, et sont aussi utilisées dans les études sur la pression artérielle : *Lewis* (LEW), *Brown-Norway* (BN) et *Wistar-Kyoto* (WKY). L'utilisation de ces souches permet un meilleur suivi des allèles transmis, car il existe un plus grand taux de polymorphisme entre deux souches non apparentées. Par exemple, pour le rat Dahl *salt-sensitive*, le taux de polymorphisme pour les marqueurs le différenciant du rat Dahl *salt-*

resistant est de 29%. Ce taux grimpe à 67% avec WKY, 50% avec LEW et 40% avec MNS¹²⁵. De plus, l'utilisation de différentes souches permet d'étudier la contribution de différents allèles d'un QTL sur la pression sanguine.

Chapitre 3 - Isolation d'un QTL

Un QTL pour la pression sanguine est essentiellement une région chromosomique où siège probablement un ou plusieurs gènes responsables d'une différence dans la pression sanguine au repos, entre deux souches ou deux populations contrastantes. Il est représenté comme une région d'un chromosome jusqu'à ce qu'il soit identifié, lorsqu'on découvre le gène responsable de son effet. Afin d'identifier un QTL pour la pression sanguine, une stratégie globale est utilisée¹²⁶.

Lors des études de liaison génétique effectuées chez le rat, certains résultats peuvent être des faux positifs^{127,128}. Afin de prouver qu'une région chromosomique contient véritablement un QTL, un test génétique plus définitif et stricte est requis. Le test génétique de choix pour l'analyse de QTL pour la pression sanguine est l'utilisation de lignées congéniques^{127,129}.

Voici les étapes suivies dans notre approche pour isoler des gènes ayant un rôle dans le contrôle de la pression artérielle chez le rat. Cette stratégie génomique permet d'isoler des gènes n'ayant jamais été reliés à cette fonction.

- (1) Analyse de liaison génétique permettant d'associer une région chromosomique à la pression artérielle. Cette région contient donc un QTL pour la pression artérielle.
- (2) Confirmation de la présence du QTL dans cette région chromosomique à l'aide de lignées congéniques.
- (3) Cartographie de la région et réduction à 1-2 cM, en utilisant des sous-souches congéniques constituées de substitutions chromosomiques de plus en plus petites.
- (4) Identification par clonage traditionnel ou informatique des gènes qui siègent dans la région candidate.
- (5) Identification par séquençage ou études d'expression de gènes candidats.

3.1 Criblage du génome

La principale stratégie chez le rat pour la recherche de gènes impliqués dans le développement de l'hypertension est l'identification de QTLs pour la pression artérielle à l'aide d'un criblage complet du génome¹⁵. La population est construite en croisant deux lignées au phénotype contrastant, comme une lignée hypertendue et une lignée normotendue, pour produire une génération F_1 . Tous les individus de cette génération sont identiques, ayant hérité de 50% du génome de chacun de leurs parents. Ensuite, des individus de la F_1 sont croisés entre eux pour produire la génération F_2 . Chez les individus de cette génération, le génome et le phénotype ont ségrégué et ils sont idéaux pour l'analyse de liaison génétique¹³⁰. Le logiciel MAPMAKER est utilisé pour construire une carte génétique, ensuite pour identifier lequel des marqueurs utilisés démontre une coségrégation avec le trait et comparer avec les marqueurs adjacents. Des seuils statistiques ont été développés pour la cartographie de loci impliqués dans des traits complexes, pour des études impliquant des sujets humains ou des modèles animaux¹³¹. Ces seuils sont dépendants du mode d'héritabilité du trait, de la fréquence de recombinaison et de la méthode de cartographie. Cette partie du travail était déjà accomplie lors de mon arrivée au laboratoire, je n'ai donc pas participé au criblage du génome fait sur un croisement S x LEW¹³².

3.2 Lignées congéniques

Une lignée congénique est une souche où une petite portion d'un chromosome d'une souche récipiente a été sélectivement remplacée par une portion homologue du même chromosome d'une souche donatrice (figure 4). Afin de construire une lignée congénique pour étudier l'hypertension, on croise deux souches avec un phénotype contrastant : une souche normotendue (donneuse) et une souche hypertendue (récipiente). Ceci produit une première génération F_1 . Les individus F_1 sont identiques, ils ont hérité de 50% de matériel génétique de chacun de leurs parents. Par la suite, on effectue des croisements retour avec la souche récipiente. Selon la loi de Mendel, entre 8 et 10 croisements retour sont nécessaires pour que les allèles du génome donneur représentent moins de 1% du génome du congénique et ceux du génome récipient, plus de 99%. L'arrière-plan génétique est donc identique à la souche récipiente, sauf pour

une région chromosomique précise provenant de la souche donneuse. Cette région est donc fixée dans un état homozygote avec les allèles de la souche donneuse. Plusieurs lignées congéniques ont été construites de cette façon¹⁵.

Il faut compter de 3 à 4 ans en utilisant la stratégie traditionnelle pour produire une lignée congénique¹³³. Ce temps est réduit en employant la stratégie rapide de construction de congéniques, qui utilise des marqueurs polymorphiques distribués à travers le génome^{134,135}. À chaque croisement, on sélectionne le meilleur mâle, possédant le moins d'allèles provenant de la souche donneuse, ce qui permet de réduire considérablement le temps nécessaire à uniformiser l'arrière-plan. Il a été calculé qu'à partir du troisième croisement retour avec la souche récipiente, la contamination par la souche donneuse est de moins de 1% si à chaque génération, 60 marqueurs espacés d'environ 25 cM sont utilisés pour analyser 16 mâles. À chaque génération, les rats sont génotypés à l'aide de loci marqueurs afin d'évaluer l'allèle parental hérité. Cette technique permet de réduire le temps moyen pour produire une lignée congénique à 15 à 18 mois.

Les lignées congéniques originales couvrent le plus souvent de grandes régions, afin d'être certain que tout le QTL est transmis. Par la suite, des souches porteuses de plus petites régions chromosomiques sont développées à partir des plus grandes, afin de réduire la région candidate du QTL. Ces souches sont développées en croisant une souche établie avec la souche récipiente, pour produire une population hétérozygote. Ensuite, des croisements frère-sœur permettent de rechercher des recombinaisons dans la région candidate. Les événements de recombinaison se produisant pendant la méiose permettent de sélectionner des rats avec de plus petites régions provenant de la souche donneuse. Les recombinaisons sont détectées par génotypage à l'aide de marqueurs polymorphiques très rapprochés¹³⁶. Une grande densité de marqueurs polymorphique est essentielle à une cartographie précise de la région couverte par une lignée congénique. Plus cette région est petite, plus la carte doit être dense.

La plus petite région de QTL identifiable à l'aide de lignées congéniques est de 1 à 2 cM, puisque la possibilité de recombinaison entre deux marqueurs très rapprochés est faible¹⁵. Une fois que la région du QTL est réduite à 1-2 cM, des gènes candidats sont sélectionnés et clonés. Plusieurs études ont localisé des QTLs pour la pression

artérielle et réduit la région candidate à environ 1-2 cM grâce à des lignées congéniques¹³⁷⁻¹³⁹

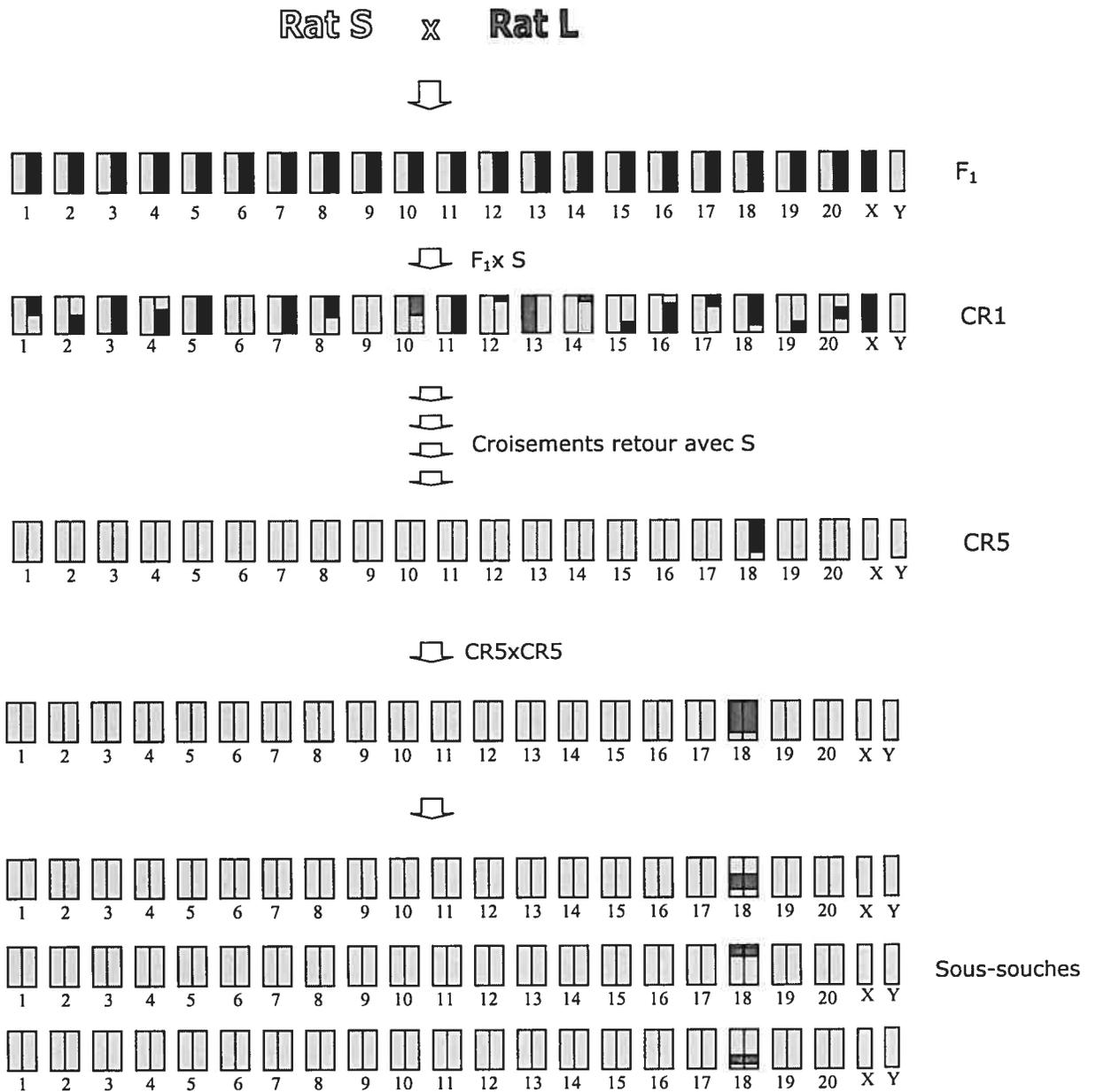


Figure 4 Construction d'une lignée congénique

Les deux souches parentales S et LEW. De nombreux croisements retour sont effectués avec la souche parentale S afin d'obtenir des lignées congéniques où seule une région déterminée provient de la souche LEW tandis que l'arrière-plan génétique provient de la souche S. Pour chaque génération, tous les chromosomes d'un rat type sont représentés.

S = Dahl salt-sensitive, LEW = Lewis, CR = croisement retour.

est faible¹⁵. Une fois que la région du QTL est réduite à 1-2 cM, des gènes candidats sont sélectionnés et clonés. Plusieurs études ont localisé des QTLs pour la pression artérielle et réduit la région candidate grâce à des lignées congéniques¹⁴⁰⁻¹⁴³.

Un aspect intéressant des lignées congéniques est la possibilité d'étudier des souches qui sont hétérozygotes au niveau de la région d'intérêt. Prenons l'exemple d'une lignée congénique qui contient un QTL et qui démontre une pression artérielle plus basse que celle de la souche témoin S. Afin de créer une lignée congénique identique à cette dernière, sauf avec une région d'intérêt hétérozygote, on croise la lignée congénique originale avec la souche témoin S. Si la pression artérielle de la lignée congénique hétérozygote se situe entre celle de la lignée congénique originale et celle de la souche témoin, cela indique que le niveau d'expression du gène est modifié par la substitution d'allèle. Si la pression artérielle est égale à celle de la lignée congénique originale ou égale à celle de la lignée témoin, cela signifie que la séquence codante du QTL a un effet sur la pression artérielle.

3.2.1 Marqueurs microsatellites

Il est important de délimiter avec précision les paramètres d'une lignée congénique. Afin de cartographier de façon précise chacune des souches, on utilise des marqueurs microsatellites. Les marqueurs microsatellites utilisés sont des séquences de deux à cinq nucléotides répétés. Ces répétitions sont distribuées à travers le génome, environ tous les 20 kb chez le rat¹⁵. Plusieurs microsatellites sont répertoriés dans des bases de données disponibles sur Internet (tableau III), mais il est possible de créer des marqueurs microsatellites en recherchant des répétitions dans le génome séquencé du rat.

Tableau III Bases de données de marqueurs microsatellites disponibles sur Internet

Organisation	Site Internet
<i>Otsuka GEN Research Institute</i>	http://ratmap.hgc.jp/Marker_search.html
<i>The Whitehead Institute for Biomedical Research/MIT Center for Genome Research</i>	http://www.broad.mit.edu/rat/public/
<i>Welcome Trust Centre for Human Genetics</i>	http://www.well.ox.ac.uk/rat_mapping_resources/
<i>Rat Genome Database RatMap</i>	http://ratmap.org/ResultSearchLocus.htm?citno=666v
<i>National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases</i>	http://www.niams.nih.gov/rtbc/ratgbase/

3.3 Cartographier un chromosome

3.3.1 Carte génétique

La première carte génétique d'un chromosome a été élaborée en 1911, dans le laboratoire de T.H. Morgan, à l'aide de la drosophile. Un chromosome était représenté par une ligne droite, et chacun des gènes était situé à un point particulier, un « locus », sur la ligne. Cette structure suggérait qu'un chromosome est un arrangement linéaire de gènes, et aucune étude ne l'a contredit depuis. Nous savons aujourd'hui que cette ligne représente la structure linéaire de l'ADN, et que les gènes sont bel et bien distribués le long de sa séquence.

À la base, une carte génétique constitue une façon d'estimer la distance génétique entre deux éléments. Cette distance est basée sur l'incidence de recombinaison entre deux chromosomes d'une même paire. Les unités de cette carte sont les centiMorgan (cM), en l'honneur de T.H. Morgan. La distance sur la carte est égale à la fréquence de recombinaison. Par exemple, une distance de 18 cM entre deux éléments signifie qu'il y a 18% de chances qu'une recombinaison se produise pendant la méiose entre ces deux éléments. Cette méthode devient moins précise lorsque la distance est grande (>25 cM), car il est alors difficile de tenir compte des multiples échanges qui peuvent survenir (doubles recombinaisons)¹⁴⁴.

Sur un chromosome, des recombinaisons se produisent plus fréquemment dans certaines régions, donc les distances à cet endroit sur la carte génétique ne correspondent pas exactement à la distance physique le long du chromosome. En effet, les recombinaisons sont moins fréquentes lorsqu'on s'approche des extrémités du chromosome et près du centromère, ces régions sont donc condensées sur la carte génétique. D'autres régions, où les recombinaisons se produisent plus fréquemment, sont étendues. Une carte de recombinaison révèle l'ordre des gènes le long d'un chromosome, mais ne donne pas avec exactitude la distance physique entre eux¹⁴⁴.

3.3.2 Carte d'hybride de radiation

La technique de panneaux somatiques d'hybrides de radiation utilise des cellules somatiques de rats, qui sont irradiées par des rayons X et fusionnées à des cellules

somatiques de hamster. Une lignée de cellules d'hybrides de radiation est établie par l'intégration des fragments chromosomiques du rat aux chromosomes du hamster. Cette carte est basée sur l'estimation que la probabilité d'une brisure chromosomique causée par un rayon X entre deux marqueurs est directement proportionnelle à la distance séparant ces marqueurs sur l'ADN. Donc, plus la distance entre deux loci est élevée, moins il y a de chance que ces deux loci soient retenus dans la même lignée d'hybrides de radiation. Une carte peut être construite à partir des résultats de présence ou d'absence de marqueurs ou de gènes obtenus par PCR sur les panneaux somatiques d'hybrides de radiation¹⁴⁵. Plusieurs sites Internet publient des versions différentes de cartes génétiques obtenues par les panneaux somatiques d'hybrides de radiation. Les cartes publiées varient par les marqueurs qui y sont placés et les distances qui les séparent, les distances étant exprimées en centirad (cR). Cette technique n'est presque plus utilisée aujourd'hui, car nous disposons d'information plus précise avec la séquence du génome du rat.

3.3.3 Carte physique

La publication de la séquence du génome du rat a permis d'améliorer la précision de la cartographie en donnant la possibilité d'évaluer la distance physique entre les gènes et entre les divers marqueurs génétiques. Lors du séquençage du génome du rat, les fragments du casse-tête ont été assemblés un à côté de l'autre¹⁴⁶. Ces fragments d'ADN sont appelés « supercontigs » et mesurent pour l'instant de 100 kb à 15 Mb environ. À chaque nouvelle version de l'assemblage du génome, certains supercontigs sont fusionnés et le nombre de fragments formant un chromosome diminue. Certains gènes prédits disparaissent, d'autres sont confirmés. À l'aide des supercontigs, on construit une carte physique, et chacun des gènes et marqueurs peuvent être placés sur cette carte. Étant donné qu'il s'agit de distances physiques, nous avons une représentation plus réelle et tangible de la région représentée par une lignée congénique et des gènes qu'elle contient. Les marqueurs microsatellites sont placés de façon très précise, en alignant leur séquence avec celle du contig à l'aide du logiciel *blast* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Cependant, certaines séquences ne peuvent être placées de cette façon, car la séquence du génome correspondante n'est pas encore assemblée.

3.3.4 Carte cytogénétique

Une carte cytogénétique est basée sur différents patrons de bandes des chromosomes observés avec un microscope suite à un traitement avec divers colorants. À l'aide de ces bandes, il est possible d'identifier des chromosomes spécifiques d'une cellule ou d'analyser ses chromosomes pour des anomalies structurales¹⁴⁷. Il est aussi possible de localiser un gène qui a été cloné à l'aide d'hybridation *in situ*.

3.3.5 Corrélation entre les cartes

Afin de confirmer la position des éléments le long d'un chromosome, une corrélation est faite entre les divers types de cartes. Lorsqu'un marqueur positionné sur une carte génétique est aussi localisé sur la carte physique, il peut servir de repère et d'ancrage entre les deux cartes. Les distances physiques ne corréleront pas directement avec les distances de la carte génétique parce que les fréquences de recombinaison ne sont pas nécessairement proportionnelles aux distances moléculaires. Tout de même, les deux distances sont souvent corrélées suffisamment dans les régions d'euchromatine pour permettre une représentation plus fiable du chromosome. Chez les humains, 1 cM équivaut en moyenne à 1 Mb de séquence d'ADN.

La cartographie d'un chromosome permet de déterminer la position des marqueurs microsatellites sur les chromosomes, et la distance entre eux. Toutes ces cartes peuvent être visualisées à l'aide du logiciel *MapView* (<http://www.ncbi.nih.gov/mapview>), qui permet de voir et de corréler plusieurs cartes, plusieurs éléments et plusieurs organismes simultanément. Par contre, ces cartes ne contiennent pas tous les marqueurs microsatellites qui existent.

3.3.6 Carte d'homologie

Dans la recherche scientifique utilisant des modèles animaux, l'objectif final est souvent de transférer les informations acquises à l'homme. Un aspect intéressant du séquençage du génome humain, de la souris et du rat est qu'il nous permet d'évaluer l'homologie entre ces espèces. Cette homologie nous permet de prédire la présence et la fonction de certains gènes. À travers l'évolution, de grands fragments d'ADN ont été conservés et transmis, et ceci explique l'homologie entre les espèces pour des régions particulières d'un chromosome.

Lorsqu'une région intéressante est localisée dans le génome du rat, on recherche la région homologue chez l'humain. Cette information nous permet de mieux évaluer les gènes retrouvés dans notre région candidate chez le rat, car le séquençage et l'identification des gènes sont plus avancés chez l'humain. Étant donné la grande homologie entre les deux espèces, il y a beaucoup de chances pour qu'un gène isolé chez le rat se retrouve chez l'humain. Évidemment, un gène qui a un effet sur la pression artérielle chez le rat n'a pas nécessairement le même rôle chez l'humain.

3.4 Étude de gènes candidats

À l'aide de la mesure de la pression artérielle de sous-souches congéniques avec des régions substituées de plus en plus petites, la région d'un QTL est graduellement réduite. Lorsque la région d'un QTL mesure environ 1 à 2 cM, plusieurs options sont envisageables afin de l'étudier plus en profondeur.

Premièrement, on peut tenter de trouver un variant dans un gène candidat. Ceci peut se faire en séquençant chacun des gènes situés dans la région du QTL, afin de détecter des différences dans la séquence codante de la lignée congénique positive par rapport à la souche témoin. Une modification dans la séquence codante peut impliquer une modification de la taille ou de la conformation de la protéine. Cependant, un variant non codant peut aussi être responsable d'un changement d'expression dans le gène, comme par exemple une mutation dans le promoteur ou dans un élément contrôlant celui-ci.

Une autre façon de trouver des variants est de rechercher les SNPs (*single nucleotide polymorphism*) connus dans cette séquence et les génotyper chez la lignée congénique et la souche témoin. À travers tout le génome, un SNP se produit à chaque 1000 pb d'ADN. Pour chaque SNP, il y a deux allèles, ce qui est idéal pour une analyse à grande échelle. Ils peuvent coder pour un changement d'acide aminé (conservé ou non) ou se trouver dans une région non codante régulatrice de l'expression de gènes. Il a été observé que ce sont souvent les mêmes blocs d'ADN qui sont transmis lors des événements de recombinaison. Ces blocs d'ADN, appelés haploblocs, contiennent plusieurs SNPs qui sont transmis ensemble. Ainsi, en génotypant un seul SNP par

haplobloc, on obtient l'information de tout l'haplobloc. Une carte des haploblocs est présentement en construction chez l'humain. Ceci promet de simplifier le génotypage des SNPs. Pour l'instant, des bases de données de SNPs sont disponibles pour le rat, et plus de 40 000 SNPs sont répertoriés jusqu'à maintenant, dont 1300 sur le chromosome 18 par exemple (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=snp&cmd=limits>).

Lorsqu'un variant est trouvé dans un gène candidat, il faut déterminer son rôle dans la régulation de la pression artérielle de la souche hypertendue originale S. Il a été observé que les variants régulateurs non codants sont plus fréquemment responsables de traits complexes que les variants dans la séquence codante^{148,149}. Toutefois, il est plus difficile d'interpréter les conséquences de variants dans une région non codante. La relation entre le promoteur, les variations dans les séquences inter-gènes, le niveau d'expression des gènes et le phénotype d'un trait sont moins bien compris que la relation entre la séquence codante de l'ADN et la fonction de la protéine. Les variations dans la séquence non codante sont plus subtiles à détecter, et pourraient être responsables de multitudes de petits changements d'expression de gènes à travers le génome qui, au bout du compte, crée une importante variation dans la pression sanguine.

Deuxièmement, on peut étudier l'expression des gènes contenus dans la région du QTL à l'aide de buvardage Northern, de PCR en temps réel ou encore de micropuces d'ADN. Toutefois, l'expression d'un gène ne donne pas d'information sur le niveau d'expression de la protéine. L'immunobuvardage Northern permet de quantifier la présence d'ARNm transcrit par un gène. Le PCR en temps réel détecte aussi la présence d'ARNm, mais permet de détecter des niveaux d'expression plus faibles. Ces deux techniques impliquent la production d'une sonde qui doit être très spécifique à l'ARNm qu'on veut détecter. Les micropuces d'ADN permettent de détecter des gènes candidats dans une très grande région couverte par une lignée congénique. Le principal désavantage de cette technologie est qu'elle donne un grand nombre de faux positifs et de faux négatifs^{150,151}. Les différents outils d'analyse statistique disponibles affectent l'interprétation des résultats et la détermination de leur significativité. Le fait de combiner les micropuces d'ADN aux lignées congénique permet de diminuer considérablement la liste de gènes candidats obtenue par cette technique, car uniquement les gènes se retrouvant dans la lignée seront considérés¹⁵².

Troisièmement, la production de rats transgéniques, où le gène candidat de la lignée congénique est inséré dans le génome de la souche témoin, constitue une technique intéressante. Étant donné le manque de lignées de cellules souches embryonnaires pour effectuer des expériences de *knock-in* chez le rat, les rats transgéniques sont une approche très intéressante pour étudier la causalité de gènes candidats pour des maladies du système cardiovasculaire. Des rats transgéniques ont été créés en utilisant des souches consanguines comme la souche S¹⁵³. Lorsqu'on veut tester un gène candidat possédant des mutations affectant la fonction du gène, on utilise un BAC contenant ce gène pour créer les rats transgéniques¹⁵⁴. Les limitations des transgéniques incluent le fait que le transgène s'intègre au hasard dans le génome et possiblement en plus d'une copie. Pour réduire ces limites, il est possible de créer de multiples lignées transgéniques afin de démontrer que les résultats sont indépendants du site d'intégration. Un aspect intéressant de cette approche est que l'expression du transgène peut être spécifique à un tissu ou à un organe. Il est aussi possible d'utiliser un transgène antisens et ainsi réprimer l'expression d'un gène. Ceci a été fait par une équipe qui a réussi à inhiber le système rénine-angiotensine dans le cerveau de rats transgéniques à l'aide d'un transgène antisens¹⁵⁵.

Chapitre 4 - Le chromosome 18 du rat et l'hypertension

4.1 Études chez le rat

Le chromosome 18 du rat est constitué d'environ 87 millions de pb, et de plus de 560 gènes, dont seulement 83 sont connus aujourd'hui. La plupart de ces gènes sont seulement prédits, et sont le plus souvent similaires à des gènes humains ou murins. Le chromosome 18 du rat est homologue à une partie des chromosomes 2, 5 et 18 de l'humain.

Ce chromosome a été associé à plusieurs reprises à la pression sanguine chez le rat, les QTLs isolés chez le rat sont résumés dans la figure 5. Une étude utilisant une population F_2 , formée d'un croisement entre le rat SHR et le rat spontanément diabétique mais normotendu BB/OK, a associé trois QTLs sur le chromosome 18 à la pression sanguine¹⁵⁶. Le groupe de Michael R. Garrett a effectué un criblage complet du génome en utilisant un croisement S x LEW¹³². Cette étude a présenté des QTLs sur les chromosomes 1,2,3,5,7,8,10,16,17 et 18. Le QTL sur le chromosome 18 (figure 6) suit un modèle additif et le *LOD score* maximum atteint 2,4 autour du marqueur D18Mit4. Ceci suggère un lien entre le chromosome 18 et la pression sanguine.

Une autre étude a présenté une carte génomique comparative pour des loci candidats pour l'hypertension, basée sur la traduction de QTLs du rat à l'humain. Ils ont produit de multiples populations F_2 à partir de souches hypertendues et normotendues. Avec le croisement S x BN et GH x BN, un QTL a été détecté sur le chromosome 18 dans la région D18Mgh4-D18Mgh2¹⁵⁷. Un aspect intéressant est qu'un QTL a été trouvé dans cette même région chez la souris¹⁵⁸.

Finalement, une étude a examiné l'influence de la diète et de la génétique sur l'hypertension et les maladies rénales chez le rat S et chez une souche consomique¹⁵⁹ où le chromosome 18 du rat BN est transposé dans l'arrière-plan génétique du rat S¹⁶⁰. Les rats sont maintenus sur une diète purifiée, et à partir de 9 semaines cette diète est à haute teneur en sel (NaCl 4%). La substitution du chromosome 18 du rat S par celui du

rat BN mène à une réduction de la pression artérielle moyenne lorsque comparée au rat parental S. De plus, comme indicateur de maladie rénale, le taux d'excrétion de protéine et d'albumine urinaire est réduit chez ce consommique. Ces résultats indiquent que des gènes important pour l'hypertension sensible au sel et la maladie rénale sont localisés sur le chromosome 18 du rat S.

Carte génétique
chromosome 18

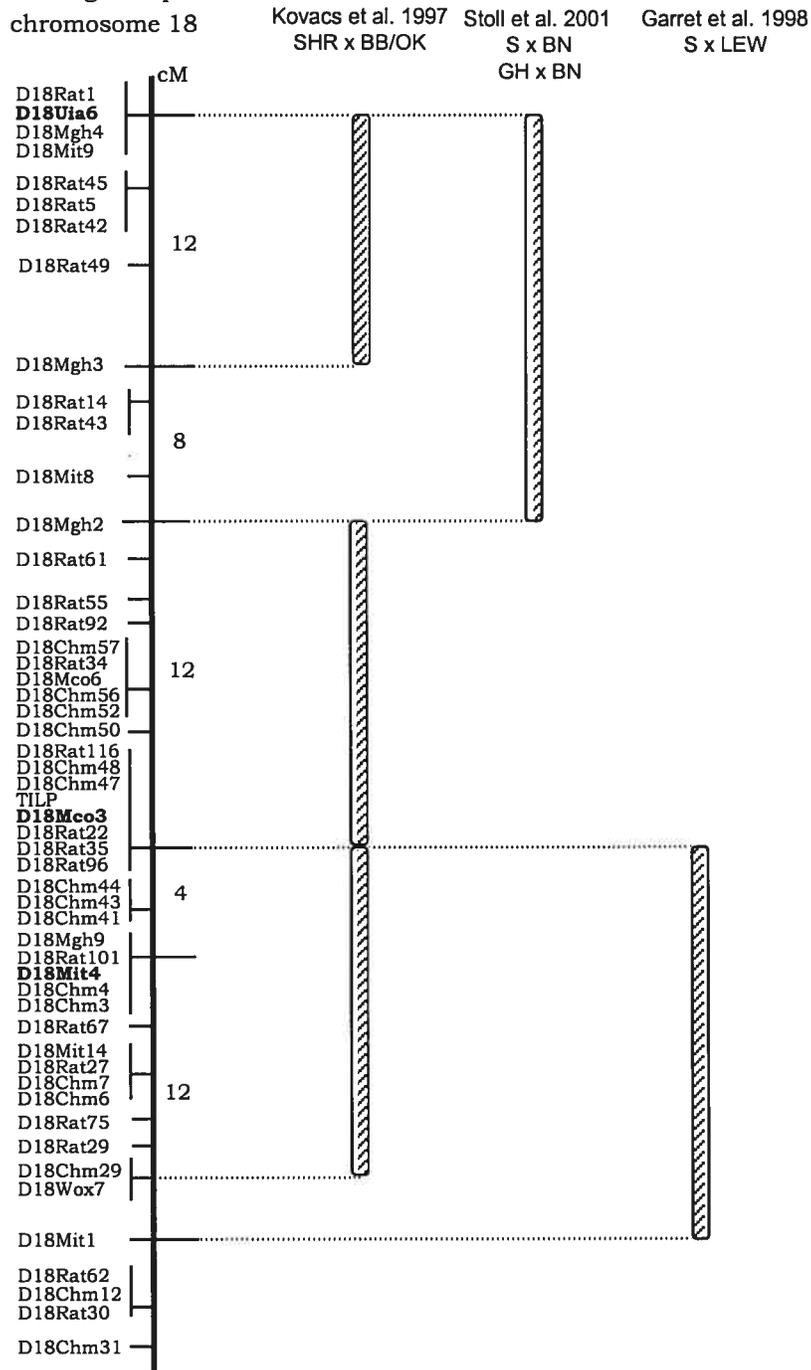


Figure 5 Représentation des QTLs pour la pression artérielle isolés sur le chromosome 18 du rat
Régions de QTL localisés à l'aide d'analyses de liaison génétique^{132,156,161}.

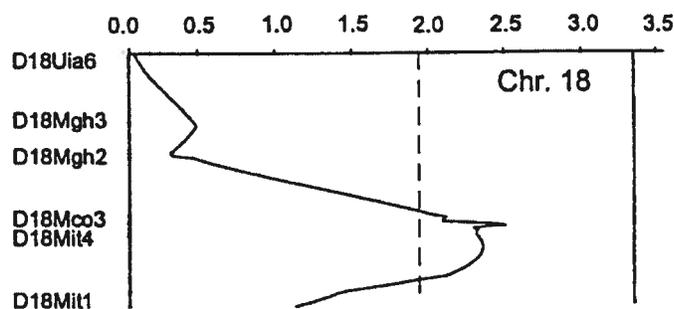


Figure 6 Représentation du *LOD score* obtenu pour la pression sanguine sur le chromosome 18. La ligne pointillée verticale représente le seuil de liaison significative¹³².

4.2 Études chez l'humain

Plusieurs études faites chez l'humain démontrent la présence d'un QTL relié à la pression sanguine dans la région 18q. Cette région est homologue à une région du chromosome 18 du rat. La première étude démontrait un lien avec le syndrome d'hypotension orthostatique familial¹⁶², puis cette région a été liée au changement de la pression systolique avec la position chez des hypertendus¹⁶³, au contrôle de la pression systolique¹⁶⁴, finalement à l'hypertension essentielle dans une population d'Islande¹⁶⁵ et dans une population d'Australie¹⁶⁶. Le chromosome 18 du rat est homologue à une région du chromosome 5 humain qui a été relié au contrôle de la pression artérielle par des études de liaison génétique^{167,168}.

Toutes ces études tendent à démontrer qu'il existe un lien entre le chromosome 18 et la pression sanguine. Aucune lignée congénique n'a encore été construite pour couvrir ces régions candidates sur le chromosome 18 du rat.

Projet de recherche

L'objectif général de cette étude est de déterminer si le chromosome 18 du rat *Dahl salt-sensitive* (S) contient un locus pour trait quantitatif (QTL) pour la pression artérielle. Au départ, le QTL est localisé dans une région chromosomique approximative établie par analyse de liaison génétique. La construction de lignées congéniques permet ensuite de réduire cette région candidate et de la cartographier plus précisément.

Le chromosome 18 du rat a déjà été liée à la pression artérielle par plusieurs études^{132,156,169}. De plus, un effet sur la pression artérielle a été détecté chez une lignée de rats consomiques pour le chromosome 18¹⁷⁰. Cependant, aucune publication ne fait état de lignées congéniques avec ce chromosome.

Afin de construire les lignées congéniques, nous utilisons la souche S (hypertendue) et la souche Lewis (LEW), normotendue. À l'aide d'une carte de marqueurs polymorphiques sur le chromosome 18, mon objectif fut de construire des lignées congéniques possédant un arrière-plan génétique provenant du rat S, et un fragment chromosomique du chromosome 18 provenant du rat LEW. Si la lignée congénique a une pression artérielle significativement plus basse que celle du rat S, la région couverte par la lignée congénique contient un QTL pour la pression artérielle. L'approche des lignées congéniques permet éventuellement de réduire la région candidate à une grandeur d'environ 1 à 2 cM. Lorsque la région est réduite, il est possible d'effectuer des études moléculaires des gènes candidats.

L'identification d'un QTL pour la pression artérielle chez le rat permet de mieux comprendre l'hypertension chez l'humain. La plupart des gènes responsables de maladies humaines possèdent un orthologue chez le rat¹⁷¹. De plus, le rat constitue un modèle idéal afin d'étudier les bases génétiques de pathologies humaines complexes comme l'hypertension. L'objectif de notre recherche est de tenter d'approfondir les connaissances que nous avons sur l'hypertension, afin de développer des traitements mieux ciblés pour les patients souffrant de cette maladie.

Méthodes

Chapitre 5 - Lignées congéniques et pression artérielle

5.1 Modèle animal

La souche de rat SS/Jr utilisée pour créer des lignées congéniques provient de J.P. Rapp et est désignée ici S. La souche LEW/CrIBR, désignée LEW, a été acquise de Charles Rivers (LaSalle, Canada). Afin de s'assurer que la souche S demeure identique à la souche d'origine, un contrôle de qualité stricte et rigoureux est fait : 87 marqueurs séparés à peu près également à travers le génome du rat sont testés. Chaque échantillon d'ADN pour chaque rat S testé est comparé à l'ADN standard S utilisé originalement. Aussi, tous les rats ont un étiquette dans la peau du cou et dans l'oreille afin de faciliter leur identification et réduire les erreurs de manipulation¹⁷². Les protocoles pour la manipulation et la maintenance d'animaux ont été approuvés par notre comité institutionnel pour les animaux. Toutes les procédures pour les expériences suivent les lignes directrices des régulations locales, provinciales et fédérales.

Le rat S développe une hypertension modérée sur une diète faible en sel (0,2% NaCl) et une hypertension sévère (>220 mmHg systolique) lorsque nourris d'une diète riche en sel (8% NaCl). Le rat LEW est normotendu et très résistant à l'hypertension induite par le sel, ce qui en fait un contraste intéressant au rat S. La pression artérielle moyenne (MAP) de la souche S est de 167 ± 4 mmHg et de 96 ± 3 mmHg pour la souche LEW (figure 7). On peut remarquer sur cette figure la variation diurne de la pression artérielle.

5.2 Marqueurs microsatellites

À l'aide de marqueurs distribués tout au long des chromosomes, il est possible de déterminer quel allèle a été hérité à quel endroit du génome pour chacun des rats de chaque génération de la construction d'une lignée congénique. Afin de délimiter les

lignées congéniques du chromosome 18, plusieurs marqueurs ont été utilisés. Les marqueurs sont nommés par la lettre D, suivi du numéro du chromosome, suivi des trois

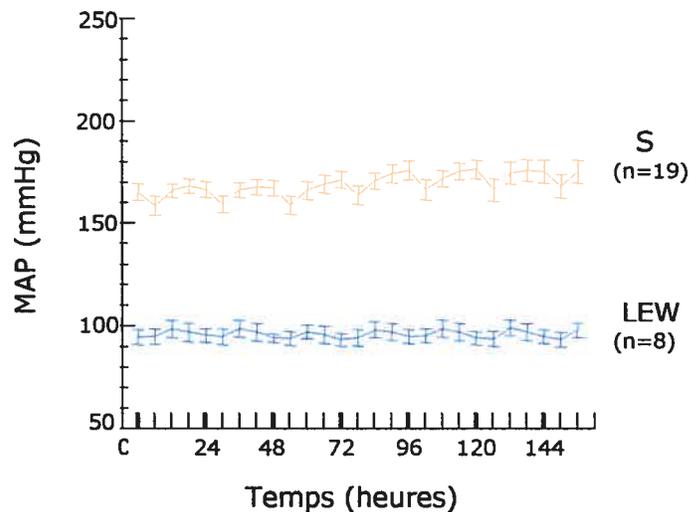


Figure 7 Pression artérielle moyenne (MAP) des souches S (Dahl *salt-sensitive*) et LEW (Lewis).

premières lettres du consensus qui les a créés, puis d'un numéro pour l'identifier. La plupart des marqueurs que nous utilisons sont disponibles sur Internet et sont anonymes (tableau III). Lorsque aucun marqueurs polymorphiques n'a été fait dans une région d'intérêt, nous en conservons. Pour le chromosome 18, ces marqueurs sont nommés D18ChmXX (Centre Hospitalier de l'Université de Montréal).

Les amorces pour amplifier les marqueurs microsatellites faits au laboratoire sont créées en utilisant le logiciel *Primer3 Output* (<http://frodo.wi.mit.edu/cgi/bin/primer3>). Ce logiciel détermine les meilleures oligonucléotides à utiliser pour amplifier un fragment d'ADN d'intérêt. La taille d'un marqueur doit être la plus petite possible (maximum 250 pb) afin de pouvoir distinguer facilement une différence de seulement quelques paires de bases entre deux souches, et permettre de réduire le temps de migration. Les amorces sont testées sur des ADNs témoins par amplification PCR. Ensuite, la réaction PCR est migrée par électrophorèse sur un gel d'agarose 4% afin de bien séparer les fragments d'ADN obtenus. Le gel est coloré avec du bromure d'éthidium pour voir les bandes d'ADN sur la lampe UV.

L'ADN de chaque rat est extrait à partir d'une biopsie de la pointe de la queue en utilisant un *Qiagen Genome kit*[®] (Mississauga, Ontario, Canada). Ensuite, chaque échantillon d'ADN est testé pour les marqueurs microsatellites appropriés, par amplification PCR. Les cycles PCR utilisés sont : 95°C pour 5 min; 30 cycles de 1) 94°C pour 40 sec, 2) 50°/55°/60°C pour 40 sec, 3) 72°C pour 1,5 min; 72°C pour 5 min. La figure 8 montre une réaction PCR effectuée pour le marqueur D18Rat29. Chacun des puits 1 à 7 représente un rat à tester, tandis que les puits 8 et 9 représentent respectivement les témoins S et LEW. On peut observer que certains rats sont homozygotes SS ou LL et d'autres hétérozygotes SL.

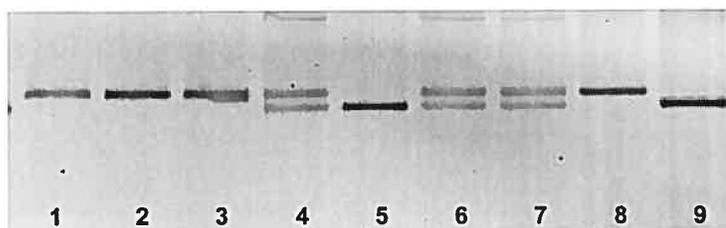


Figure 8 Marqueur microsatellite amplifié par PCR sur plusieurs échantillons d'ADN. Les puits 8 et 9 représentent les témoins S et LEW respectivement. Il est possible de déterminer quel allèle a été hérité chez les rats testés (puits 1 à 7).

5.3 Lignées congéniques sur le chromosome 18

Les deux lignées S et LEW sont croisées ensemble afin de construire des congéniques pour le chromosome 18. Le rat S constitue la souche récipiente et le rat LEW la souche donneuse. Chacune des lignées congéniques possède un arrière-plan génétique S (hypertendu) et une portion du chromosome 18 LEW (normotendu). La génération F₁, formée d'un croisement S x LEW, est croisée avec la souche parentale S, il s'agit d'un croisement retour (CR1). Les rats de la génération CR1 sont génotypés pour 87 marqueurs séparés à peu près également à travers le génome du rat de 18 cM en moyenne (Tableau IV). Le choix de marqueurs peut parfois varier dépendamment de la région chromosomique où on veut développer le congénique. Le rat CR1 qui est hétérozygote SL pour une région du chromosome 18, mais qui possède un maximum d'homozygocité SS pour le reste du génome, est sélectionné et désigné comme le progéniteur idéal CR2. Ainsi de suite, jusqu'à CR5. À ce point, seulement les marqueurs

délimitant la région d'intérêt du chromosome 18 sont hétérozygotes SL, et les marqueurs pour le reste du génome incluant ceux qui bordent la région d'intérêt, sont homozygotes SS. Afin de construire une lignée congénique LEW x S, la même méthode est utilisée, sauf que la souche récipiente est LEW et la souche donneuse est S. Cette lignée congénique possède un arrière-plan génétique LEW et une portion du chromosome 18 S.

Tableau IV Marqueurs utilisés pour construire des lignées congéniques S x LEW

Chromosome	Marqueurs testés
1	D1Wox25, D1Rat304, D1Mco27, <i>Sa</i> , D1Uia12, D1Arb33, D1Rat19
2	<i>Camk2d</i> , <i>Gca</i> , D2Rat302, <i>Cpb</i> , D2Rat199, D2Uia5
3	D3Rat107, D3Rat17, D3Rat24, D3Rat66, D3Wox3, D3Rat52
4	D4Mgh1, D4Mgh16, D4Uia1, D4Mit17, D4Uia4
5	D5Rat130, D5Uia8, D5Mco2, <i>Ela2</i>
6	D6Rat105, D6Mit1, D6Mgh3
7	D7Mgh1, D7Rat152, D7Rat44, D7Rat110, D7Rat18, D7Rat128, D7Rat115
8	D8Mgh11, D8Rat134, D8Rat43, D8Uia2, D8Rat55
9	D9Rat64, D9Uia9, D9Wox23
10	D10Mco10, D10Mco17, D10Mgh6, D10Wox6, D10M11Mit58
11	D11Rat50, D11Mit1, D11Uia1
12	D12Mit6, D12Rat32, D12Mit4
13	D13Mgh4, D13Uia3, D13Uia8
14	D14Wox10, D14Uia2, D14Uia1
15	D15Uia8, D15Mgh2, D15Rat126
16	D16Rat14, D16Rat67, D16Uia2, D16Mit2
17	D17Mit5, D17Mgh5, D17Wox7, <i>Edn1</i>
18	D18Uia6, D18Mit8, D18Mco6, D18Wox7
19	D19Rat82, D19Rat25, D19Rat57
20	D20Wox3, D20Wox1, D20Mgh1
X	DXUia2, DXMco1, DXRat93

5.4 Télémétrie

Lorsque la lignée congénique est construite, sa pression artérielle est mesurée par télémétrie. Les couples de rats de lignées congéniques à étudier et de la souche témoin S, sont croisés au même moment et au même endroit. Pour toutes les lignées congéniques présentées ici, des rats mâles ont été sélectionnés pour la télémétrie. Pour la souche S.L3, des rats femelles ont aussi été étudiés. Les rats pour la télémétrie sont choisis à partir de différentes portées lorsque possible, afin de minimiser l'influence potentielle de cette dernière. Les rats choisis sont sevrés à l'âge de 21 jours, et maintenus sur une diète faible en sel (0,2% NaCl, Harlan Teklad 7034). Puis, à partir de

l'âge de 35 jours, les rats sont nourris d'une diète à haute teneur en sel (2% NaCl, Harlan Teklad 94217), et ce jusqu'à la fin des expériences.

À l'âge de 56 jours, lorsque le poids des rats se situe entre 250 g et 320 g, une sonde de télémétrie est implantée. Avant la chirurgie, les rats sont anesthésiés par inhalation d'isoflurane (4%, pour 3 minutes). Pendant la chirurgie, l'état d'anesthésie est maintenu par l'isoflurane (1,5-2%). L'implantation du cathéter de pression, qui contient le gel biocompatible à sa pointe et le fluide non comprimable liant la pointe au senseur de pression, est faite par l'artère fémorale, et jusqu'à ce que le cathéter atteigne l'aorte abdominale. Le cathéter est retenu et fixé par des sutures au vaisseau sanguin. Le corps de l'implant, regroupant le senseur de pression, le module électronique réutilisable et la batterie, est fixé au muscle de la cavité abdominale. Après la chirurgie, les rats récupèrent pendant 10 à 17 jours. Dans les 3 premiers jours de récupération, les rats sont nourris de Jello-O[®] contenant l'analgésique buprenorphine, à 0,5% mg/kg. Par la suite, ils sont nourris de leur diète 2% NaCl régulière additionnée de *Ensure milkshake*[®] avec chocolat. Ce supplément est donné pendant environ 5 jours et facilite leur appétit et la prise de poids.

Le système de télémétrie provient de Data Sciences Inc. (St-Paul, Minnesota, USA). Chaque sonde de télémétrie est calibrée avant et nettoyée après chaque usage selon les instructions du fabricant.

5.5 Analyse statistique

Afin de comparer la pression artérielle entre une lignée congénique et le témoin S, l'analyse de variance de mesures répétées ANOVA est utilisée, suivi du test de Dunnett, en utilisant le programme SYSTAT 9 (SPSS Sci. Chicago, IL). Cette analyse vise à déterminer si la différence de pression entre deux souches atteint un niveau significatif pour chaque composante de la pression artérielle. La correction de Dunnett tient compte des comparaisons de groupes et de la grandeur de l'échantillon entre la lignée congénique et la souche témoin. En fait, la pression de la lignée congénique est comparée à celle de la souche témoin, et si la pression artérielle est significativement différente de celle du témoin, la région couverte par le congénique est considérée comme

contenant un QTL pour la pression artérielle. Les rats mâles sont comparés à des rats mâles de la souche témoin (S ou LEW), et les rats femelles sont comparés à des rats femelles de la souche témoin (S).

Lorsque la pression artérielle d'une lignée congénique est déterminée comme étant significativement plus basse que celle de la souche témoin S, la lignée congénique est dite « positive », tandis que lorsque la pression artérielle des deux souches n'est pas significativement différente, la lignée congénique est dite « négative ». Afin de déterminer l'intervalle d'un QTL, nous comparons les lignées congéniques positives et négatives, et localisons le QTL dans une région couverte par une souche positive, mais non couverte par une souche négative. Ce raisonnement s'est avéré juste dans nos travaux antérieurs¹⁷², où une lignée congénique a été faite par la suite pour couvrir l'intervalle du QTL, et ce segment avait un effet sur la pression artérielle.

Résultats

Chapitre 6 - Pression artérielle des lignées

6.1 Lignées congéniques sur le chromosome 18

Nous avons construit plusieurs lignées congéniques couvrant le chromosome 18. La pression artérielle a été mesurée chez sept de ces souches : S.L1, S.L2, S.L3, S.L4, S.L5, S.L6 et L.S1 (figure 9). Les souches S.L1 et S.L2 proviennent d'un ancêtre commun qui couvrait presque tout le chromosome 18, tandis que les souches S.L3, S.L4, S.L5 et S.L6 constituent des sous-souches provenant d'une recombinaison dans la souche S.L2. Nous avons aussi construit une lignée congénique L.S1, où une portion du chromosome S remplace le fragment homologue du rat LEW.

Les lignées congéniques produites sur le chromosome 18 sont représentées sur une carte du chromosome 18 (figure 9). La carte de liaison génétique est basée sur des résultats précédents d'études de liaison faites à l'aide d'une population $F_2(S \times LEW)$, et en utilisant le logiciel MAPMAKER¹³². Les nombres à droite de cet axe sont en centimorgans (cM). La carte d'hybrides de radiation (RH) présente les distances entre les marqueurs en centirads (cR), obtenues par à l'aide de panneaux somatiques d'hybrides de radiation. La carte physique réfère à l'alignement des supercontigs du génome du rat dans un ordre ascendant du bas vers le haut. Les positions des marqueurs sur la carte physique sont obtenues par un *blast* de leur séquence sur la base de données du génome du rat (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/RnBlast.html>). Le nom d'un supercontig du chromosome 18 est composé de NW_047 suivi par trois chiffres. Le nombre sous le nom du contig indique sa taille approximative en paires de bases.

Pour les souches S.L1 à S.L6, une bande noire et la jonction avec une bande blanche représentent un génotype homozygote LEW pour cette région du chromosome, et l'extrémité de la souche et le reste du génome sont homozygote SS. Pour la souche L.S1, une bande grise et la jonction avec une bande blanche représente une région homozygote SS, et l'extrémité de la souche et le reste du génome sont homozygote LL. Une bande blanche représente une région d'ambiguïté entre deux marqueurs microsatellites, où le génotype est inconnu. Les jonctions entre les bandes et les

extrémités des régions chromosomiques d'intérêt sont reliées par une ligne pointillée à la position des marqueurs sur la carte.

Afin de délimiter avec précision les limites des lignées congéniques construites, plusieurs marqueurs microsatellites ont été utilisés. D'une part, des marqueurs provenant de bases de données disponibles sur Internet ont été utilisés; ceux qui sont polymorphiques entre les souches S et LEW sont présentés dans le tableau V. D'autre part, des marqueurs ont été créés dans des régions pertinentes à partir de la séquence du génome du rat (tableau VI). Certains de ces marqueurs ne sont pas polymorphiques entre les souches S et LEW ou encore ne fonctionnent pas. Pour chacun des marqueurs, il est indiqué sa taille, la séquence de ses amorces, le supercontig dans lequel il est situé et sa position, la température à utiliser pour son amplification par PCR, et son polymorphisme entre S et LEW. Lorsque la taille du marqueur est plus grande chez la lignée S que chez la lignée LEW, on indique $S > L$. Lorsque la taille du marqueur est égale entre les deux lignées, cela signifie que le marqueur n'est pas polymorphique entre ces deux lignées et on indique $S = L$. Il est toutefois possible que ce même marqueur soit polymorphique entre deux autres lignées.

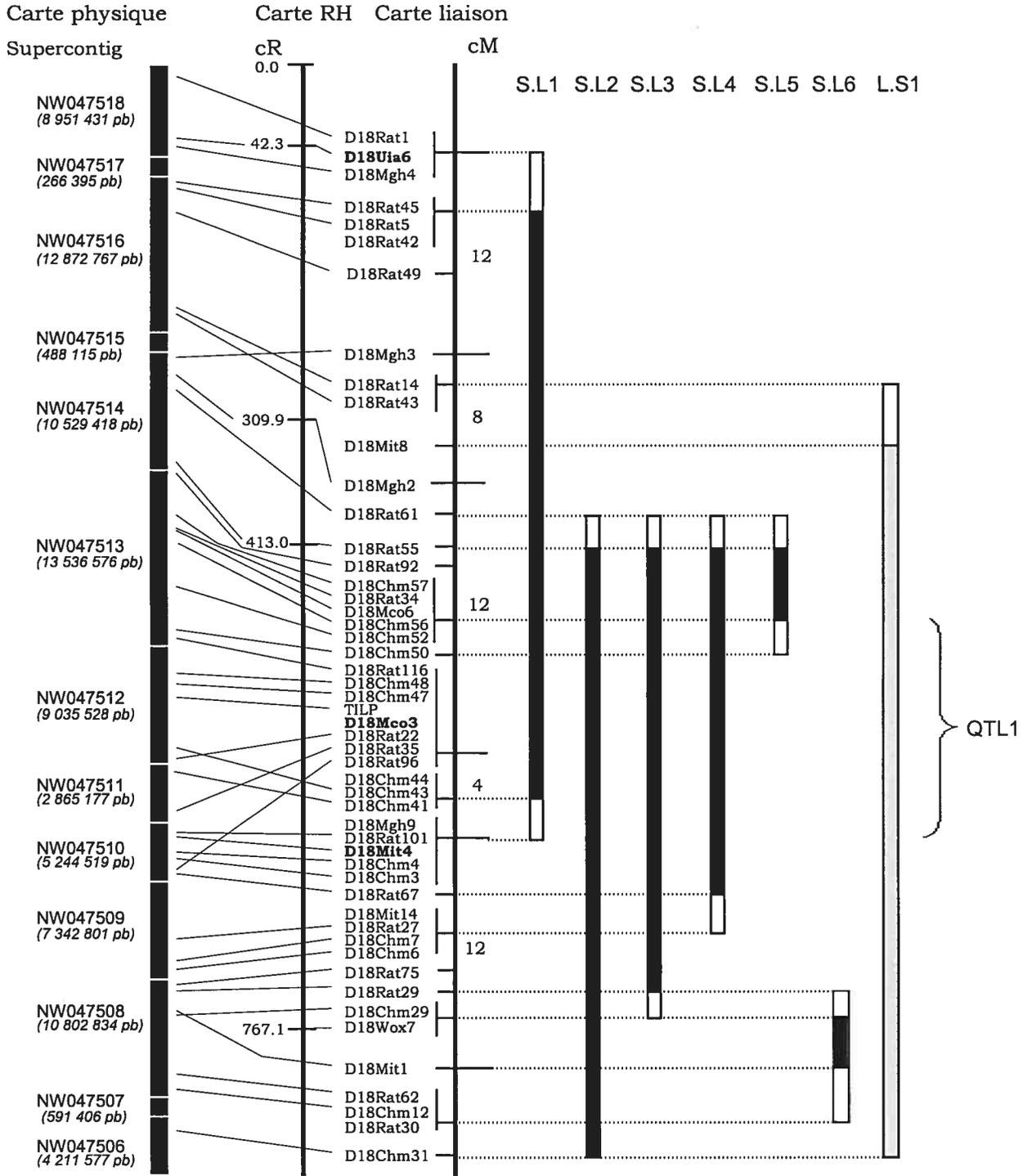


Figure 9 Carte des lignées congéniques sur le chromosome 18

Une bande noire représente un fragment chromosomique provenant de la souche LEW. Une bande grise représente un fragment chromosomique provenant de la souche S. Une bande blanche aux extrémités des bandes noires indique une région d'ambiguïté entre deux marqueurs. Les lignées congéniques représentées sont S.LEW-D18Mgh4/D18Rat101 (S.L1), S.LEW-D18Rat61/D18Chm31 (S.L2), S.LEW-D18Rat61/D18Chm29 (S.L3), S.LEW-D18Rat61/D18Rat27 (S.L4), S.LEW-D18Rat61/D18Chm50 (S.L5), D18Rat29/D18Rat62 (S.L6) et D18Rat61/D18Chm50 (L.S1). RH, *radiation hybrid*; cM, centimorgans; QTL, *quantitative trait loci*.

Tableau V Marqueurs microsatellites polymorphiques entre S et LEW situés sur le chromosome 18

Marqueur	Poids (pb)	Contig (version 2)	Position ds contig	T. PCR (°C)	Polym	Amorce F (5' > 3')	Amorce R (5' > 3')
D18Rat1	114	NW_047518	8544214	55-60	S<L	ggatcagtcaggaagtcgga	Aaggatgtgttcaccacc
D18Rat5	200	NW_047516	12377713	55-60	S>L	acaactatgcatacaacacatctga	Cattgccatccctcagatt
D18Rat14	175	NW_047516	1949619	55-60	S<L	cctaatacaaaaccagcacc	Cacatcatacgcataatgctc
D18Rat22	125	NW_047512	183495	55-60	S>L	ctgctctgcaggttaaagg	Ggacagagaaacttcctctg
D18Rat27	143	NW_047509	2833456	55-60	S<L	gtttaaagaagggggacc	Ttgactggaacagggtgatt
D18Rat29	247	NW_047508	9027959	55-60	S>L	taacgggactaaggagccct	Tgcaaaatctctccccagt
D18Rat30	143	—	—	55	S<L	aalcagctctccccaggag	Tcaaaatctcttttaaatgg
D18Rat34	142	NW_047513	9375260	50-55	S<L	acagcctggaatggacatc	Ccccctccaagagttatg
D18Rat35	175	NW_047511	638840	55-60	S>L	tctgccacagccttctaa	Attcagacaggagcagcgac
D18Rat42	219	NW_047665	182772	55-60	S<L	acctgatgcaactttgggc	Ctgcagctcgggttttag
D18Rat43	240	NW_047516	1577712	55-60	S<L	gaggacatggcctcattcat	Gaccagctacacatccactataca
D18Rat45	131	NW_047516	12436272	55-60	S>L	acctgaaaaaccaacatgg	ttggcttgggtatgctalc
D18Rat49	180	NW_047516	10919945	50-55	S>L	tactcattgaatacacttgcag	aagaccctctctatctgctg
D18Rat55	100	NW_047514	898263	55	S>L	tgcttttttgcaatcaa	caacaaagcagccctctctc
D18Rat61	245	NW_047514	7614563	55-60	S<L	tcccagtgctgtagacca	aatcaagaggctgggactga
D18Rat62	225	NW_047508	2031662	55-60	S>L	cagaggctgagatggggat	gttgatgctatgcgctaac
D18Rat67	147	NW_047510	657914	55	S>L	gcattgttttccctcttaca	gcattcatcatctctcccc
D18Rat75	184	NW_047508	9574104	55	S<L	cacactcagggtgaaaagca	accacatgtaacagaacca
D18Rat80	126	NW_047516	11861136	55-60	S<L	aactgggcagaatgaacc	gggcctctgtctctaggat
D18Rat92	183	NW_047513	13518350	55-60	S>L	caaaatagcttgcctaatgc	tcccacctgcctatgactc
D18Rat96	157	NW_047513	698566	50-55	S>L	tggacatcctcaatggacct	gcagatctctctccacagc
D18Rat101	209	NW_047510	4308966	55-60	S<L	agggaaggcaagaaccatt	ctctggctacggctcggga
D18Rat112	223	NW_047508	1586370	50-55	S>L	caggaggctctcagaatcca	ccgttttctggtactgttagc
D18Rat116	228	NW_047513	194239	55-60	S>L	tccactgtccagggaagac	tgcatatcttttgaacca
D18Arb7	185	—	—	55-60	S>L	cagttcagattggaagcacgg	gtctgtgaaagcgactttacc
D18Mgh2	197-213	NW_047514	8356043	50-55	S<L	ggttgaaagtgaggacgc	acctcaaggtctctctctgct
D18Mgh3	146-165	NW_047514	10152974	50-55	S>L	tctgacacctgttattatgca	tgaaggctcctctctctgag
D18Mgh4	115-130	NW_047518	1271168	50-55	S>L	cctaggcagtagttaccatgctc	gtttctgttgcctcggag
D18Mgh9	139	—	—	55-60	S>L	gccaaggacttgtaagtg	aaagaaataatgtcaaaagtgcc
D18Uia6	200	NW_047518	882068	50-55	S>L	aaaggggtgagtaagcagt	atggactattggaagtgagg
D18Mit1	141	NW_047508	7530638	50-55	S<L	gcggtacagaaagaagagaga	agaggttgccataaaagaca
D18Mit4	125	NW_047510	4294012	50-55	S>L	gaccctcgtgtcgtccac	caggctctctgagttcaatgaca
D18Mit8	146	—	—	55	S<L	aaagccaaggcttaactgaagc	tcgaccacacacctccct
D18Mit9	152-185	—	—	50-55	S<L	aacaaaagggaatgaatgacc	agcactgagggtccagattt
D18Mit14	96	—	—	50-55	S>L	ccgacatgacctagctgt	ttgcctatgccagtttg
D18Mco6	262	NW_047513	9115737	50	S<L	gacagatcctgatggctt	ggagggtgacattctg
TILP		NW_047512	5811319	55-60	S<L	aactcagtgatgctggaaga	agggagcagaactactaaagatac
D18Wox7	200	—	—	50-55	S<L	gtgaaagcctctcttcaaa	caataataacagctccact

S, Dahl salt-sensitive; L, LEW; T, température; pb, paires de bases; polym, polymorphisme; F, forward; R, reverse. La position des contigs est indiquée dans la figure 9. Les supercontigs sont ceux obtenus par un blast de la séquence des marqueurs sur la base de données du génome du rat (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/RnBlast.html>).

Tableau VI Nouveaux marqueurs microsatellites sur le chromosome 18

Marqueur	Poids (pb)	Contig (version 2)	Position ds contig	T. PCR (°C)	Polym	Amorce F (5' > 3')	Amorce R (5' > 3')
D18Chm1	168	NW_047510	1164104	55-60	S=L	tctaaaactgctgggcgtgt	ctctcaaagagcctctggta
D18Chm2	225	NW_047510	2437021	55-60	S=L	atgctcccgtgattccagttg	tggtggctcacaacatcta
D18Chm3	211	NW_047510	3313501	55-60	S>L	catgctggcccctaggtaa	tgatgtagacagcaggaaca
D18Chm4	167	NW_047510	4298613	60	S<L	ggcagctcttagtcccttc	tggtggtctgaactctga
D18Chm5	242	NW_047510	4843810	55-60	S=L	ggccctcttggtatagacc	cagagagagccatggaacaa
D18Chm6	195	NW_047509	693381	55-60	S>L	agtagacatgccacctgg	atggtggagaagaggcaga
D18Chm7	201	NW_047509	1589291	55-60	S<L	tggcccctagagaagtcaga	tcatcaagaggggaaaagga
D18Chm8	164	NW_047509	2952231	55-60	S=L	taagcctgcccgttaaaga	accaagtgggaatccatga
D18Chm9	221	NW_047509	4292641	55-60	S=L	gacttacctggcgttgagc	aacagctggggctctagaca
D18Chm10	244	NW_047509	5535501	55-60	S=L	ttgggtatgaccaccttc	gaagaggcagaggacatgga
D18Chm11	176	NW_047509	6326641	—	—	gtgaaaggccaagatcaa	agctctctcccgttttagcc
D18Chm12	221	NW_047508	333771	55-60	S>L	tgaaggcttggtcttggt	ccttggaaaaggagctgtg
D18Chm13	225	NW_047508	858461	—	—	agagatctgctgcctctgc	aggccctctctgtctgtc
D18Chm14	219	NW_047508	1334861	55-60	S>L	atgcctgaaactccaggatg	gcacaggacatccattct
D18Chm15	220	NW_047508	2646531	55-60	S=L	tcacagctggctttgtctt	tccatccatttctgacaaa
D18Chm16	170	NW_047508	3535921	—	—	cctcccatgattccagatg	ttgggtgctcccaggaatta
D18Chm17	220	NW_047508	4954801	55-60	S=L	cctcccatcctacttcca	tcagctcaagatgaaggaa
D18Chm18	184	NW_047508	6365861	55-60	S=L	gttcaatcaccacagcacca	tgaataaactcccgcactcc
D18Chm19	210	NW_047508	7679421	—	—	ggggagagggtgacggaat	cagggacctagcaaacgct
D18Chm20	231	NW_047506	967281	55-60	S=L	tccagaatggcaatgagaga	tgtagcaggatcagggttta
D18Chm21	195	NW_047506	2287911	55-60	S=L	acaggggtggaagaaggact	agggccaagcaaglaaggt
D18Chm22	208	NW_047506	3650571	55-60	S=L	gggtctctcaccaaaactgg	tcccataccaggaggag
D18Chm23	208	NW_047509	3443691	55-60	S<L	tgccatacaggcaaacacat	atgtcccaaggacattga
D18Chm24	174	NW_047509	4623461	55-60	S=L	accttcccacccttcaac	gcaaagatcaaactgccta
D18Chm25	152	NW_047509	6182671	55-60	S=L	cccaagttggcactaggat	aggctgtattgccaagatcg
D18Chm26	203	NW_047509	7122611	55-60	S=L	glactggcgattgggacatt	calltctctacagtgcttc
D18Chm27	236	NW_047508	4193741	55-60	S=L	gtccccaaactgaacaga	gttctgggcatctgatt
D18Chm28	241	NW_047508	5357551	55-60	S=L	aacctatgcaatccagtgga	agcagcatctatcgaacca
D18Chm29	240	NW_047508	7373131	55-60	S<L	ctagcgtcttcccaaatg	gggtttttgatccgtaggg
D18Chm30	185	NW_047506	1104701	55-60	S=L	tctggctatcccatctggt	ccatgaccaagtgatgct
D18Chm31	222	NW_047506	2847931	55-60	S>L	tgagcaagtcccattttc	caaaggcagaggactgtttg
D18Chm32	134	NW_047506	3838431	55-60	S=L	ctggcctgacacttcttc	agaagagcctgccactacca
D18Chm33	194	NW_047514	1536911	55-60	S=L	agagctatctccagcagagca	tcgggttgaagagcctcac
D18Chm34	190	NW_047514	2635271	55-60	S=L	attctccctctgagcccaat	gatgatgggaaagagacca
D18Chm35	198	NW_047514	3340411	55-60	S=L	gacatagaggctgtcctctgg	gaacccttgccaatcctct
D18Chm36	179	NW_047514	4620231	—	—	ctgaaatgggtcaggagaca	catgggtgtcctgatgtgt
D18Chm37	174	NW_047514	5732561	55-60	S=L	agctgtgtaagaggccaca	ttccagaagtcctctctc
D18Chm38	173	NW_047514	7816191	55-60	S=L	cgaatcccaaaacattcaca	gggttgaattccaaggat
D18Chm39	224	NW_047511	486061	—	—	aacacgtcaccacgtatttc	ctctgctgggaggaaga
D18Chm40	215	NW_047511	1597801	55-60	S=L	cccttctgtgtctaggc	agccagttctctcctgtg
D18Chm41	205	NW_047511	2474521	55-60	S>L	ttcagtgaaaggggtgtgga	agtgcggcatctgtaattc
D18Chm42	158	NW_047512	634081	55-60	S=L	aggggtaggatctgtcagg	agggcttaccgaaactctct
D18Chm43	214	NW_047512	1773421	55-60	S<L	tgacctgacctttggatt	ggcatcgaaggaacaagag
D18Chm44	227	NW_047512	2807101	55-60	S>L	ctgggtgtaccttgggtaa	tcataggcaaggagactaggaa

Marqueur	Poids (pb)	Contig (version 2)	Position ds contig	T. PCR (°C)	Polym	Amorce F (5' > 3')	Amorce R (5' > 3')
D18Chm45	184	NW_047512	3739021	55-60	S<L	ggcaagcactctaccactga	tctccatacatgggctgtg
D18Chm46	230	NW_047512	4945501	55-60	S>L	tccacacagggaaaagcagaac	cgtttgaacacatatttctcg
D18Chm47	188	NW_047512	6071161	55-60	S>L	gttgatgccacactgacac	ggttggtcttctggggita
D18Chm48	183	NW_047512	7048081	55-60	S<L	gggatacaacctccctggat	gccagtgcatgctgattcia
D18Chm49	198	NW_047512	8687701	55-60	S>L	ggggctcctagctcaaaalc	tcttccatgcctctggtag
D18Chm50	170	NW_047513	932941	55-60	S<L	tgtcaatatcgtggggata	tcctcatgtagcgtcatcact
D18Chm51	175	NW_047513	2069161	55-60	S<L	tgccaacctggacaacataa	ttcatcaaatgggatgagt
D18Chm52	195	NW_047513	4144801	55-60	S<L	ttgagacacctgggctac	atctagcatgctccaccaca
D18Chm53	201	NW_047513	4914961	55-60	S<L	aaagacttctctggcagca	ctccactgacctccact
D18Chm54	182	NW_047513	6124261	55-60	S=L	gacagacatggigtggaga	gagatggtccttctggag
D18Chm55	205	NW_047513	7561981	55-60	S=L	aaacaaggcaccttccaa	aaccaggaacgacaatctgc
D18Chm56	159	NW_047513	8608501	55-60	S<<L	cctgataggggatgctcaga	cctgtgccttcatcttgggt
D18Chm57	153	NW_047513	10157341	55-60	S<L	ggggittaagccaaaatgct	ttccaggcaaggagaaaaga
D18Chm58	188	NW_047516	3269401	55-60	S=L	tcaaggttgaaccttcca	aaggaacataggaggcagaa
D18Chm59	153	NW_047516	4064221	55-60	S<L	ggcaactaagctgagggtga	gttggcagccagagagagctc
D18Chm60	235	NW_047516	5309041	55-60	S=L	gagacctgcccatacaataa	ccctctgatactgccaga
D18Chm61	133	NW_047516	6617581	55-60	S=L	cagcctcagaccaataagc	gcccaggagctaagtctgatt
D18Chm62	163	NW_047516	7483441	55-60	S=L	gagctcatgtgcacacagaaa	gctagtcttctgcactgg
D18Chm63	185	NW_047516	8289781	55-60	S=L	gaatggagttcgaaggtgc	ccgtccalcalcttctctgg
D18Chm64	218	NW_047516	9333001	---	---	agcaacaggcaagagggtgt	tcaacctcagggttcaggctc
D18Chm65	249	NW_047518	419101	55-60	S=L	aaggacagaagggtctca	cccgtaggcactccagtaa
D18Chm66	195	NW_047518	425581	55-60	S=L	cagcaagttggaaagccta	actgcagcctgtaaggcact
D18Chm67	164	NW_047518	447721	55-60	S=L	ctccactgcctatgaaacctg	caagcttctgcatctgaca
D18Chm68	184	NW_047518	451741	55-60	S=L	ggttctccagcaagcagctc	ccccaacacaggtttgatct
D18Chm69	159	NW_047518	455161	55-60	S=L	gcaagcgcgtatgtgaataa	ggttcaggccttacatttgg
D18Chm70	167	NW_047518	483481	55-60	S=L	tcaaggcaggaatccacttc	ggacatggcctttgacctta
D18Chm71	181	NW_047518	519181	55-60	S=L	aggaccgtgcaataatgtcc	gctgcagaacacactggaa
D18Chm72	182	NW_047518	529441	---	---	acttgcctgcacacacacag	tttgaagaaccaggaagca
D18Chm73	192	NW_047518	551461	55-60	S=L	ccccgcctctcttacctat	ctcctccctctcgggttag
D18Chm74	190	NW_047518	554701	55-60	S=L	agtcagctcccctgcccctat	ccacctggtcttcaatag
D18Chm75	177	NW_047518	603661	55-60	S=L	tgtaccaaccacaagctc	agaaacctgtctctgcatgg
D18Chm76	177	NW_047518	606961	55-60	S=L	agtacaggaggagcaagca	tcctggtaaaactgcctcct
D18Chm77	203	NW_047518	640801	---	---	tgccatgctacaactcaagg	ggtgctcagctccagtgatg
D18Chm78	206	NW_047518	643381	55-60	S=L	tgaggccaaggtagggtaca	catggagggactctgtctcc
D18Chm79	211	NW_047518	699001	55-60	S=L	tggtgaacactgcctcac	atatccccacactgggatt
D18Chm80	186	NW_047518	703681	55-60	S=L	gctgtcctggcttacctcac	ggccccaggaactaactc
D18Chm81	209	NW_047518	773221	55-60	S=L	agaaatggcagccctgaaa	ttccctgtccttaccctct
D18Chm82	158	NW_047518	794821	55-60	S=L	ggagctcagcttcalccac	aacctgtgggctgggtac
D18Chm83	199	NW_047518	823021	55-60	S=L	gcgcatatagaattctgatcctt	ctgtcctctggctccacat

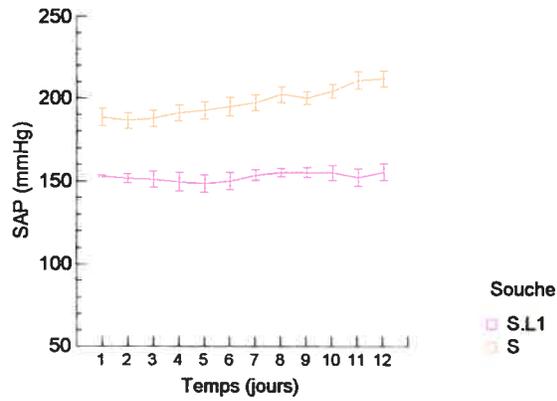
S, Dahl salt-sensitive; L, LEW; T, température; pb, paires de bases; polym, polymorphisme; F, forward; R, reverse. La position des contigs est indiquée dans la figure 9. Les supercontigs sont ceux obtenus par un blast de la séquence des marqueurs sur la base de données du génome du rat (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/RnBlast.html>).

6.2 Mesures de la pression artérielle

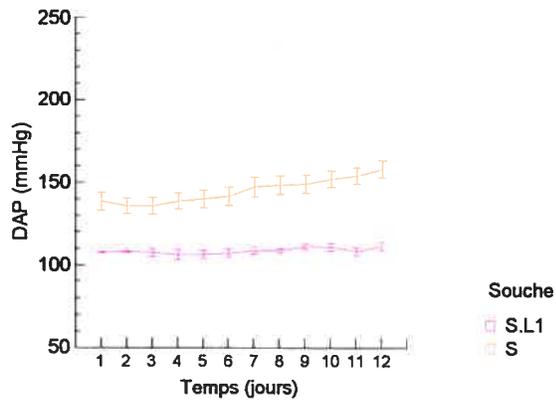
Les mesures prises sont la pression artérielle systolique (SAP), la pression artérielle diastolique (DAP) et la pression artérielle moyenne (MAP). Elles sont prises de façon directe et continue pendant une période de 10 à 20 jours. Pour chaque rat, une mesure est prise des trois paramètres à chaque 2 min et durant 10 sec, 24/24 h pendant la durée de l'expérience. Afin de simplifier la présentation des résultats, chaque point sur les graphiques représente une moyenne sur 24 h de mesures prises toutes les 4 h.

Dans les pages suivantes sont présentées la SAP, DAP et MAP pour les rats S et chacune des lignées congéniques S.L1 (figure 10), S.L2 (figure 11), S.L3 mâles (figure 12), S.L3 femelles (figure 13), S.L4 (figure 14), S.L5 (figure 15), S.L6 (figure 16). La figure 16 présente les paramètres de la pression artérielle pour les souches LEW et L.S1. Les valeurs de SAP et DAP varient de façon concordante avec les valeurs de MAP.

A



B



C

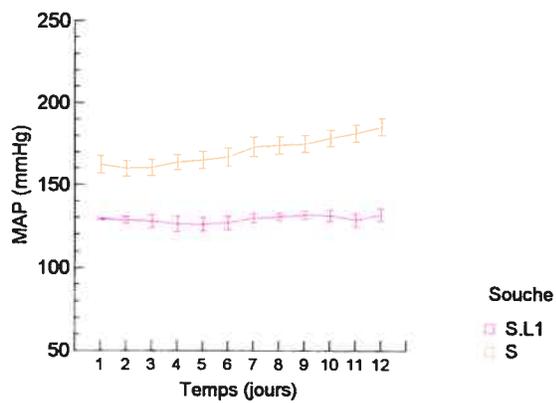
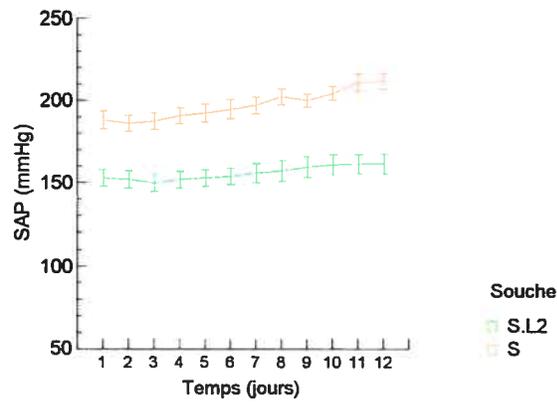


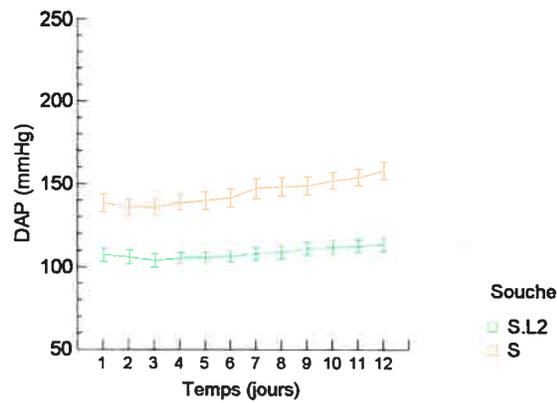
Figure 10 Pressions artérielles de la souche S.L1

Comparaison des composantes de la pression artérielle entre la lignée congénique S.L1 (n=7) et S (n=19). En rose S.L1 (n=7) et en orange S (n=19). La pression artérielle moyenne (MAP), la pression artérielle diastolique (DAP) ainsi que la pression artérielle systolique (SAP) sont significativement différentes entre S et S.L1 ($p < 0.001$). Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètres de mercure (mmHg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

A



B



C

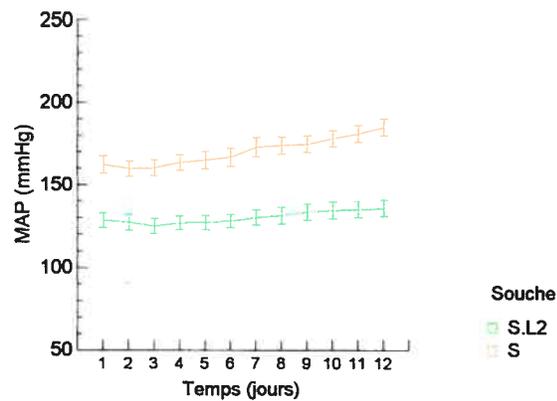
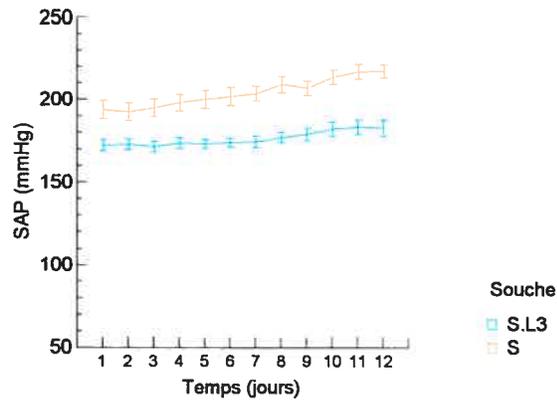


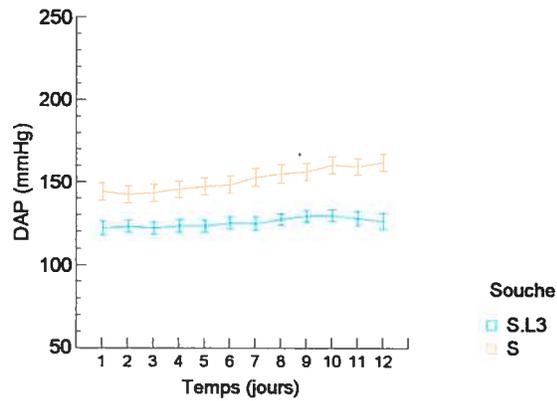
Figure 11 Pressions artérielles de la souche S.L2

Comparaison des composantes de la pression artérielle entre la lignée congénique S.L2 et S. En vert S.L2 (n=5) et en orange S (n=19). La pression artérielle moyenne (MAP), la pression artérielle diastolique (DAP) ainsi que la pression artérielle systolique (SAP) sont significativement différentes entre S et S.L2 ($p < 0.001$). Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètres de mercure (mmHg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

A



B



C

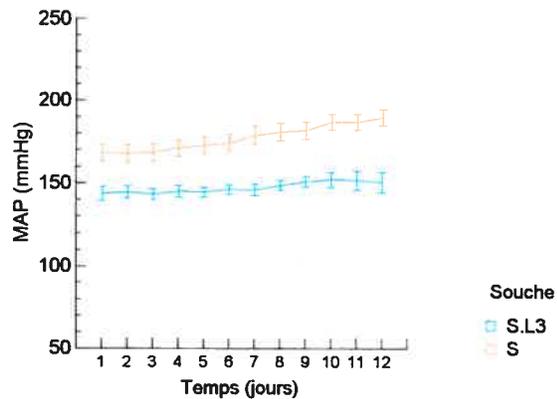
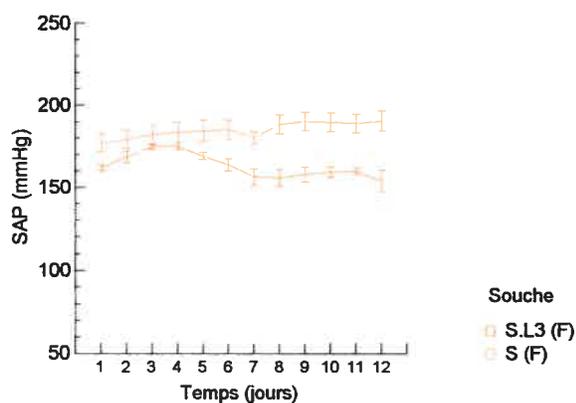


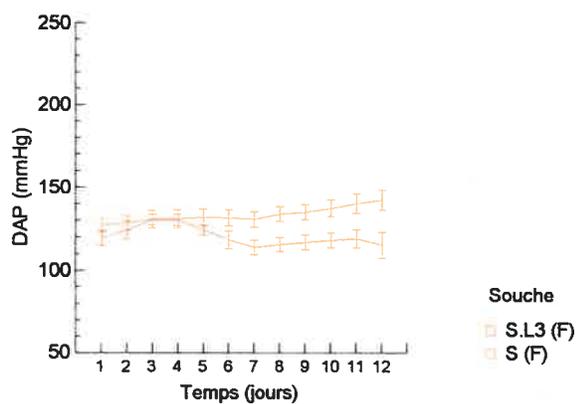
Figure 12 Pressions artérielles de la souche S.L3 pour les rats mâles

Comparaison des composantes de la pression artérielle entre la lignée congénique S.L3 et S. En cyan S.L3 (n=11) et en orange S (n=19). La pression artérielle moyenne (MAP), la pression artérielle diastolique (DAP) ainsi que la pression artérielle systolique (SAP) sont significativement différentes entre S et S.L3 ($p < 0.003$). Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètres de mercure (mmHg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

A



B



C

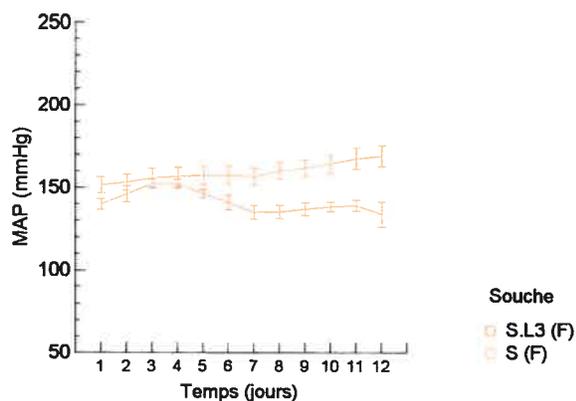
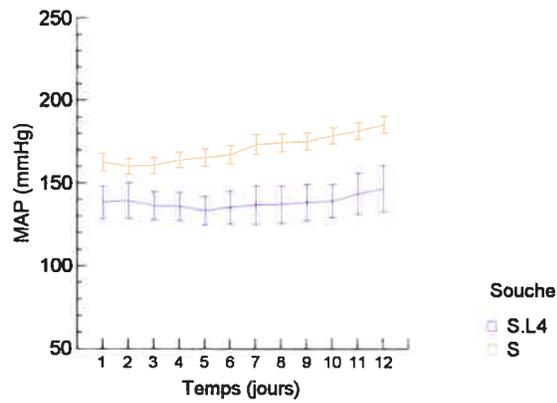


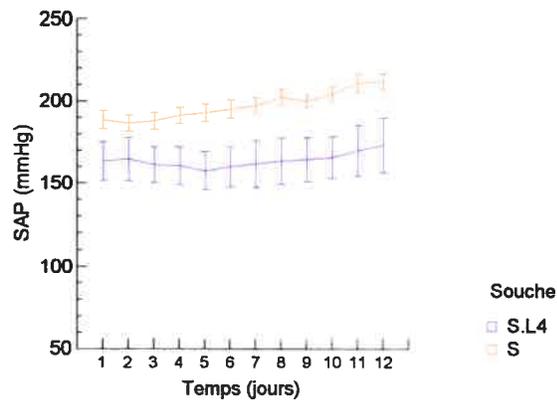
Figure 13 Pressions artérielles de la souche S.L3 pour les rats femelles

Comparaison des composantes de la pression artérielle entre la lignée congénique S.L3 (F) et S (F). En brun S.L3 (F) (n=4) et en orange S (F) (n=17). La pression artérielle moyenne (MAP), la pression artérielle diastolique (DAP) ainsi que la pression artérielle systolique (SAP) ne sont pas significativement différentes entre S (F) et S.L3 (F) ($p > 0,055$). Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètres de mercure (mmHg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

A



B



C

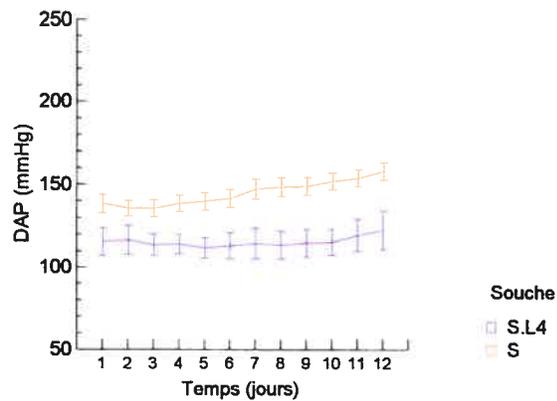
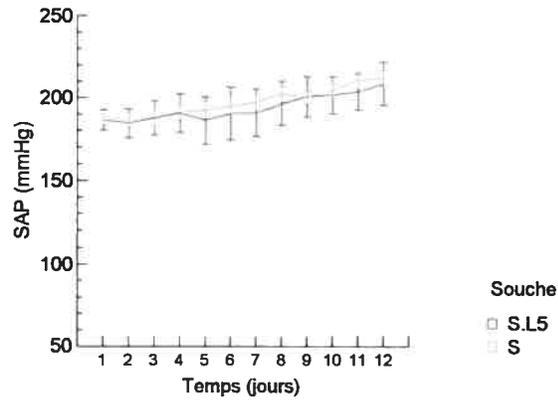


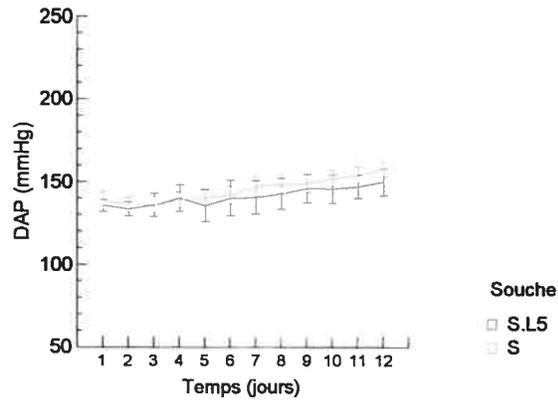
Figure 14 Pressions artérielles de la souche S.L4

Comparaison des composantes de la pression artérielle entre la lignée congénique S.L4 ($n=7$) et en orange S ($n=19$). La pression artérielle moyenne (MAP), la pression artérielle diastolique (DAP) ainsi que la pression artérielle systolique (SAP) sont significativement différentes entre S et S.L4 ($p<0.001$). Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètres de mercure (mmHg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

A



B



C

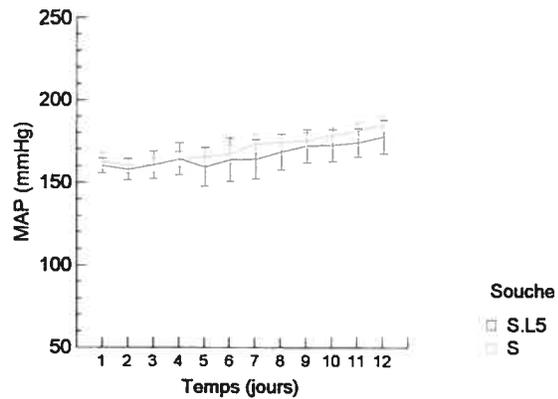
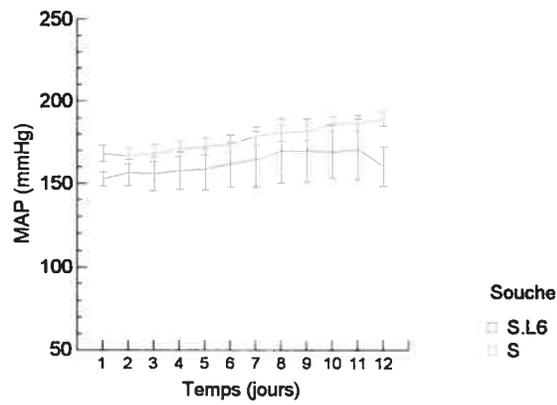


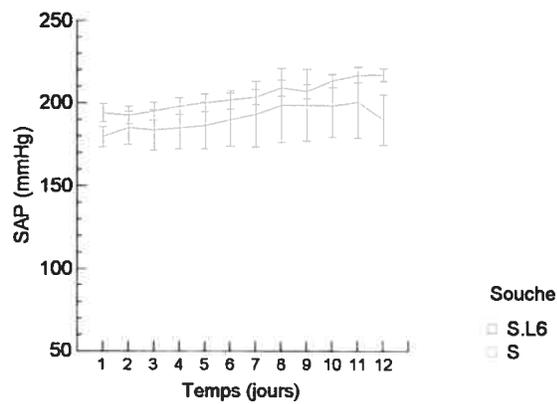
Figure 15 Pressions artérielles de la souche S.L5

Comparaison des composantes de la pression artérielle entre la lignée congénique S.L5 et S. En bleu S.L5 ($n=7$) et en orange S ($n=19$). La pression artérielle moyenne (MAP), la pression artérielle diastolique (DAP) ainsi que la pression artérielle systolique (SAP) ne sont pas significativement différentes entre S et S.L5 ($p>0.332$). Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètres de mercure (mmHg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

A



B



C

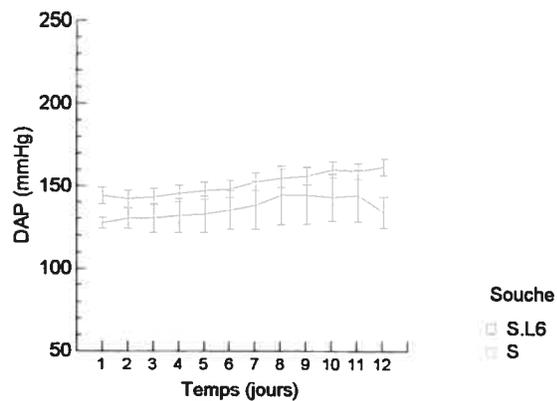
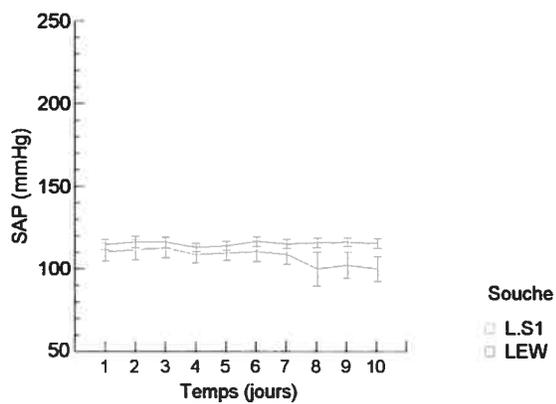


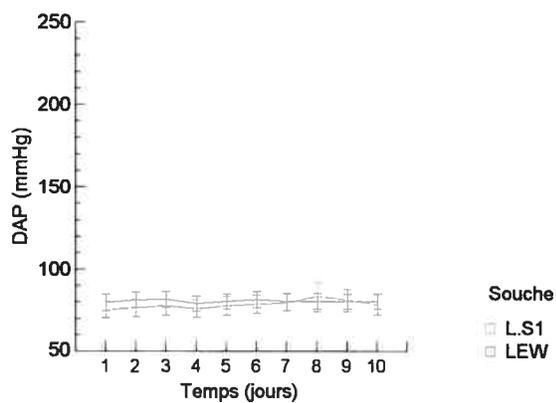
Figure 16 Pressions artérielles de la souche S.L6

Comparaison des composantes de la pression artérielle entre la lignée congénique S.L6 et S. En bleu S.L6 (n=4) et en orange S (n=19). La pression artérielle moyenne (MAP), la pression artérielle diastolique (DAP) ainsi que la pression artérielle systolique (SAP) ne sont pas significativement différentes entre S et S.L6 ($p > 0,055$). Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètres de mercure (mmHg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

A



B



C

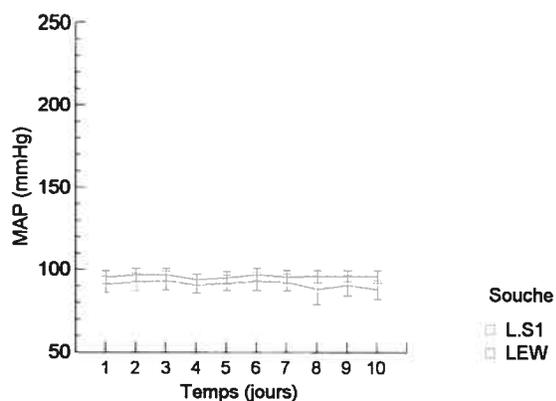


Figure 17 Pressions artérielles de la souche L.S1

Comparaison des composantes de la pression artérielle entre la lignée congénique L.S1 et LEW. En vert L.S1 (n=4) et en violet LEW (n=8). La pression artérielle moyenne (MAP), la pression artérielle diastolique (DAP) ainsi que la pression artérielle systolique (SAP) ne sont pas significativement différentes entre LEW et L.S1 ($p > 0,548$). Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètres de mercure (mmHg). Les barres d'erreurs repré- sentent l'erreur standard.

6.2.1 Résumé des résultats de pression artérielle

Le tableau VII résume les résultats obtenus pour la pression artérielle des sept lignées congéniques. La MAP diminue significativement ($p < 0,001$) dans les lignées congéniques S.L1 (129 ± 3 mmHg), S.L2 (135 ± 2 mmHg), S.L3 (139 ± 10), S.L4 (142 ± 9 mmHg) par rapport à la souche S (167 ± 4 mmHg). La MAP n'est pas significativement différente ($p > 0,332$) entre S.L5 (171 ± 9 mmHg) et S (167 ± 4 mmHg), ni entre S.L6 (164 ± 12 mmHg) et S ($p > 0,079$). La MAP n'est pas significativement différente ($p > 0,548$) entre L.S1 (87 ± 2 mmHg) et LEW (96 ± 3 mmHg).

Tableau VII Pression artérielle moyenne (MAP) des lignées congéniques construites sur le chromosome 18 et des souches témoins S et LEW

Souche	Sexe	n	MAP (mmHg)	Variation de MAP (mmHg)	ANOVA
S.L1	mâles	5	129 ± 3	-38	$p < 0,001$
S.L2	mâles	7	135 ± 2	-32	$p < 0,001$
S.L3	mâles	11	149 ± 4	-18	$p < 0,003$
S.L3	femelles	4	141 ± 3	-19	$p > 0,055$
S.L4	mâles	3	142 ± 9	-25	$p < 0,001$
S.L5	mâles	7	171 ± 9	+4	$p > 0,332$
S.L6	mâles	4	164 ± 12	-3	$p > 0,079$
L.S1	mâles	7	87 ± 2	-9	$p > 0,548$
S	mâles	19	167 ± 4	+71	$p < 0,0001$
S	femelles	17	160 ± 5	---	---
LEW	mâles	8	96 ± 3	-71	$p < 0,0001$

S, Dahl *salt-sensitive*; LEW, Lewis; n, nombre de rats; MAP, Mean arterial pressure; mmHg, millimètres de mercure; ANOVA, test statistique.

Un QTL pour la pression artérielle, pour un croisement S x LEW, peut être localisé sur le chromosome 18 du rat Dahl. Ce QTL, désigné QTL1, se situe dans la région partagée entre les souches S.L1, S.L2, S.L3 et S.L4 (souches positives), mais non partagée par S.L5 et S.L6 (souche négative) (figure 9). Le résultat négatif de la souche L.S1, issue du croisement LEW x S, ne permet pas de localiser un QTL. Les résultats de la souche S.L3 femelles ne permettent pas de déterminer si le QTL1 est dépendant du sexe.

Discussion

Chapitre 7 - Stratégie de génétique animale

7.1 De l'animal à l'humain

Afin de trouver les gènes responsables d'un trait complexe comme l'hypertension, il faut tenir compte de l'hétérogénéité au locus, l'épistase, la faible pénétrance, l'expression génétique variée, la pléiotropie et les pouvoirs statistiques parfois limités.

Plusieurs études ont isolé des loci reliés à la pression sanguine chez l'humain, sans que ces résultats soient consistants entre les études^{173,174}. D'un autre côté, les études chez les animaux ont reproduit le phénotype de plusieurs maladies complexes, et les gènes responsables ont été élucidés. Ces études révèlent souvent les effets de loci uniques, et ces effets peuvent être reproduits à travers les espèces et diverses souches animales¹⁷⁵. Ces gènes sont trouvés à l'aide d'études de liaison génétique et de cartographie utilisant des croisements de souches consanguines¹⁷⁶.

Plusieurs raisons peuvent expliquer les différents taux de réussite des approches humaines et animales. Tout d'abord, l'architecture et la structure génétique jouent un rôle important dans les traits complexes. Cet arrière-plan varie considérablement d'une personne à l'autre, et reste difficile à détailler. Chez l'animal, il est possible de contrôler les variables expérimentales, comme l'environnement et l'arrière-plan génétique¹⁷⁷. Ensuite, un effet génétique peut dépendre du contexte (âge, sexe, poids) ou de la population. C'est pourquoi il faut élaborer des expériences pour identifier des interactions gène-gène et gène-environnement comme facteur de risque.

Finalement, même si un allèle est physiologiquement significatif dans des études animales, la variation dans les fréquences des allèles de loci interagissant entre eux peut masquer cet effet chez l'humain¹⁷⁸. Les modèles animaux sont utiles pour étudier les voies physiologiques menant à la maladie, et le contraste des résultats entre l'humain et l'animal dans des traits complexes comme l'hypertension est dû au rôle de plusieurs gènes avec chacun un effet minimal, difficile à détecter.

Les QTLs ciblés lors de cette étude ne sont pas seulement reliés à la pression artérielle sensible au sel, mais aussi à l'hypertension essentielle en général. Même si un

QTL n'est pas identifié au niveau moléculaire, l'information contenue dans la région chromosomique du QTL peut aider à identifier des gènes candidats lorsque cette région présente une conservation synthétique chez l'humain¹⁷⁹⁻¹⁸².

7.2 Modèle animal

Les modèles animaux constituent une stratégie adéquate afin d'étudier les traits complexes de la génétique humaine. Un modèle animal permet entre autres de contrôler les variables expérimentales et d'effectuer des croisements contrôlés dans une population donnée. De plus, le modèle doit permettre le développement de marqueurs génétique, nécessaires à la dissection de traits complexes en composantes génétiques individuelles.

7.2.1 La souris comme modèle de l'hypertension

La souris est le modèle animal le plus utilisé en recherche, car elle démontre une grande homologie avec l'humain et sa petite taille permet un élevage plus facile. Elle est largement utilisée pour la compréhension des fonctions des gènes grâce à son infrastructure génétique et génomique élaborée. Il existe plusieurs études d'hypertension répertoriées qui ont utilisé la souris comme modèle¹⁸².

Toutefois, la souris ne constitue pas le modèle idéal pour des études physiologiques complexes. Il existe peu de modèles pathophysiologiques établis, son volume sanguin est limité, la physiologie cardiaque de la souris est différente, comme le reflète une sensibilité réduite au calcium dans le cœur lorsque comparée au rat ou à d'autres mammifères, et une faible dépendance de la stimulation adrénargique sur la fonction cardiaque systolique¹⁸³. D'un aspect pratique, les mesures de pression artérielle sont souvent diffuses chez la souris, sa petite taille limitant les mesures de pression artérielle à une méthodologie non invasive rendant la détermination du phénotype difficile^{184,185}. De plus, la caractérisation physiologique de la souris ne démontre pas de corrélation pour certaines caractéristiques cliniques humaines comme l'hypertension. Ensuite, les modèles de souris possèdent naturellement un grand nombre d'allèles pour la pression artérielle et les mesures semblent démontrer que la souris possède une grande capacité d'adaptation dans la régulation de sa pression, ce qui rend l'étude de sa pression artérielle complexe¹⁵.

7.2.2 Le rat comme modèle de l'hypertension

Le rat est de plus en plus utilisé pour la recherche médicale. Il engendre une progéniture nombreuse en une période de gestation relativement courte et permet de contrôler des composantes environnementales^{186,186}. Ils peuvent être sujets à une variété de conditions expérimentales et peu cher à maintenir. De plus, ce modèle est produit facilement de larges recombinaisons génétiques permettant la dissection de traits et interactions complexes.

Il est estimé que 90% des gènes du rat possèdent des orthologues à travers les génomes de la souris et de l'humain¹⁸⁷. Aussi, d'autres gènes proviennent d'événements de duplication s'étant produit uniquement chez le rat, et non chez l'humain ou la souris. Ces gènes contribuent à des caractéristiques biologiques spécifiques au rat, incluant certains aspects de la reproduction, l'immunité et le métabolisme de toxines. Toutefois, presque tous les gènes responsables de maladies humaines ont un orthologue chez le rat. Ceci démontre l'importance du rat comme organisme modèle en science expérimentale.

La pathophysiologie de l'hypertension, ses complications et la réponse au traitement sont très similaire entre le rat et l'humain^{98,188}. Étant donné que les rats ont une durée de vie relativement courte, il est possible d'étudier la progression naturelle de l'hypertension.

7.2.3 Les souches consanguines de rats S et LEW

Les souches consanguines de rats ont facilité l'analyse de l'hypertension essentielle en permettant d'étudier uniquement les différences dans les gènes causant l'hypertension. Par contre, chez une souche consanguine hypertendue, les allèles de tous les loci sont fixés simultanément. Donc, un seul allèle par gène causant l'hypertension est sélectionné. La combinaison de tous ces allèles uniques détermine l'arrière-plan génétique où les gènes causant l'hypertension sont exprimés. La nature même de l'hypertension essentielle implique une hétérogénéité génétique importante. Ainsi, l'homogénéité génétique peut exclure les effets d'autres allèles de gènes directement ou indirectement reliés à l'hypertension⁸⁷.

Les deux souches de rat pour lesquelles nous avons opté dans cette étude sont la souche hypertendue S et la souche normotendue LEW. Ces deux souches étaient déjà présentes au laboratoire. Le rat S est fréquemment utilisé pour étudier l'hypertension. Il développe une pression artérielle élevée lorsque soumis à une diète riche en sel. Comme souche contrastante, nous avons utilisé la souche LEW, par rapport à la souche R qui a été développée en parallèle au S comme souche témoin. Les rats LEW sont normotendus et résistent à l'hypertension induite par le sel. De plus, ils démontrent un haut taux de polymorphisme avec la souche S, contrairement à la souche R, qui possède moins d'allèles polymorphiques par rapport à S¹²⁶. Il est important de souligner qu'en recherche de QTLs, la combinaison avec des souches normotendues variées est privilégiée car en plus de permettre d'isoler des QTLs, elle permet de diversifier les allèles contrastants.

Un haut taux de polymorphisme entre les deux souches utilisées est primordial. Ceci permet de cartographier avec une grande précision la région d'intérêt à l'aide d'une grande densité de marqueurs. De plus, les études précédentes de liaison génétique faite par Garrett et al¹³² utilisait le croisement S x LEW et notre objectif était de confirmer la présence du QTL sur le chromosome 18 détecté lors de cette étude.

7.2.4 Lignées congéniques

Lorsqu'on veut construire une lignée congénique informative pour l'hypertension, la souche receveuse doit être la souche possédant l'arrière plan génétique le plus permissif concernant la pression artérielle. Dans notre cas, il s'agit de la souche hypertendue S. L'utilisation de la souche LEW comme souche receveuse sera traitée à la section 8.3.

La recherche de base pour trouver les gènes qui contrôlent la pathogenèse de maladies humaines est essentielle pour des maladies complexes comme l'hypertension. L'analyse de liaison génétique et la cartographie par intervalle utilisant des croisements expérimentaux ont localisé des QTLs sur presque tous les chromosomes. Aucun de ces QTLs pour l'hypertension essentielle n'a encore mené à l'identification d'un gène. La difficulté majeure dans l'étude de QTLs est l'identification du ou des gènes qui causeraient la maladie, donc le passage du QTL au gène. En fait, les QTLs sont souvent

très grands, de 5 cM à plus de 40 cM, et on peut y retrouver plusieurs centaines de gènes.

L'utilisation de lignées congéniques permet de confirmer la présence du QTL détecté auparavant par analyse de liaison génétique. Ensuite, elle permet de réduire la région du QTL à environ 1-2 cM, ce qui est raisonnable pour des fins de séquençage et pour le nombre de gènes contenus. Cependant, l'identification du gène (ou des gènes) responsable de l'effet sur la pression artérielle demeure un grand défi.

Chapitre 8 - Localisation de QTL

8.1 Un QTL sur le chromosome 18 du rat Dahl

Le QTL sur le chromosome 18 est localisé à l'aide des lignées congéniques démontrant une pression artérielle significativement différente de celle de S. Ainsi, la région du chromosome qui est couverte par une lignée congénique positive contient des allèles contrôlant la pression sanguine du rat S. Ces allèles, lorsque remplacés par des allèles du rat LEW, influencent la pression artérielle. Dans cette étude, les allèles LEW font baisser la pression artérielle chez certaines lignées congéniques, mais il est possible que les allèles LEW augmentent la pression artérielle d'un congénique S x LEW^{189,190}.

8.1.1 QTL1

Les souches positives S.L1, S.L2, S.L3 et S.L4 partagent une région sur le chromosome 18. Afin d'isoler le QTL1, on soustrait la région couverte par les souches négatives S.L5 et S.L6, et on obtient le QTL1. Les probabilités qu'un QTL se situe dans cette région sont très élevées. La région du QTL1 se situe donc entre les marqueurs D18Chm52 et D18Rat101 (figure 9) et contient les supercontigs NW_047511, NW_047512, et une partie des supercontigs NW_047510 et NW_07513. Ce QTL mesure entre 10 Mb et 17 Mb, si on inclut les zones d'incertitudes.

Un QTL pour la pression artérielle a été localisé dans la même région par liaison génétique chez le rat, en utilisant les rats S et LEW^{132,156}. Cette région est homologue à la région 5q chez l'humain, qui a été relié au contrôle de la pression artérielle par des études de liaison génétique^{167,168}.

8.1.2 Interaction entre QTLs

Les souches S.L3 et S.L4 démontrent respectivement un effet sur la pression artérielle de 18 mmHg et de 25 mmHg. Ces deux souches contiendraient seulement QTL1. La souche S.L2 a un plus grand effet sur la pression artérielle (32 mmHg), ce qui suggère la présence de 2 QTLs dans cette région. Les résultats de pression artérielle de la souche S.L6 (164±12 mmHg) ne sont pas significativement différents de ceux de la

souche S. Cependant, il est possible d'observer sur les graphiques une tendance de la pression artérielle de S.L6 à être plus faible que celle de la souche S (figure 16). Il est intéressant de noter qu'un QTL a été localisé dans la région couverte par S.L6 par le groupe de Kovacs¹⁵⁶. Ceci sera évalué lors d'une deuxième mesure de la pression artérielle de la souche S.L6 ainsi que lors du développement de sous-lignées congéniques dans cette région du chromosome 18.

Deux études de liaison génétique faites chez l'humain relient l'hypertension essentielle¹⁶⁵ et l'hypotension orthostatique¹⁶² à la région 18q21-22, qui est syntenique à la région 18q12 chez le rat, où un QTL relié à la pression sanguine a aussi été détecté chez le rat¹⁹¹. Cette région est située dans le haut de la carte génétique du chromosome 18 présentée ici (figure 9), et il n'est pas exclu qu'un QTL soit éventuellement localisé dans cette région. En effet, il est possible que l'effet sur la pression artérielle observé chez la souche S.L1 soit dû à plus d'un QTL, car elle démontre un grand effet sur la pression artérielle (-38 mmHg).

Afin d'identifier avec précision l'identité du QTL, il faudra réduire la région du QTL à l'aide de mesure de pression artérielle de sous-lignées congéniques. Ces lignées congéniques sont déjà en voie de développement et vont assurément améliorer la localisation du/des QTL(s) sur le chromosome 18.

8.2 Recherche de gènes candidats

Le fonctionnement du QTL1 reste inconnu. Il est possible que les allèles LEW situés dans cette région du chromosome 18 abaissent la pression artérielle en influençant différemment les systèmes biologiques, ou encore que l'absence des allèles S crée un vide dans une voie biologique et empêche la pression d'augmenter.

Il est important de noter que cette étude utilise le modèle du rat, il est donc possible que le gène isolé et tenu pour responsable de la haute pression artérielle observée soit spécifique au contrôle de la pression artérielle chez le rat. La délimitation exacte du QTL est encore hypothétique, et la région reste beaucoup trop grande pour rechercher des gènes candidats sérieux. Je propose ici un rapide survol de cette région et de quelques gènes intéressants qu'elle contient.

La région du QTL1 est évaluée entre 10Mb et 17Mb, et à environ 8cM. Dans cette région, on retrouve 155 gènes chez le rat, dont 22 gènes connus (annexe A). À travers les gènes connus chez le rat, quelques gènes pourraient jouer un rôle intéressant dans la détermination de la pression sanguine. Tout d'abord, *Kcnn2*, qui est un canal pour le potassium à faible conductance et activé par le calcium, exprimé dans le rein¹⁹². Ensuite, il y a *Slc4a9*, un co-transporteur de sodium bicarbonate exprimé principalement dans le rein¹⁹³. Nous savons que le contrôle des électrolytes joue un rôle important dans la détermination de la pression sanguine, donc ces deux gènes pourraient être impliqués dans l'équilibre cellulaire du Na^+ , du K^+ et du Ca^{2+} . Ces gènes n'ont pas été analysés dans cette étude car ils se trouvent dans une très grande région candidate, mais ils pourraient constituer des gènes candidats intéressants dans le futur.

La région homologue chez l'humain contient 140 gènes dont 131 gènes connus. Chez la souris, on retrouve 125 gènes, dont 77 gènes connus. Il s'agit d'une région hautement conservée entre les trois espèces (figure 17).

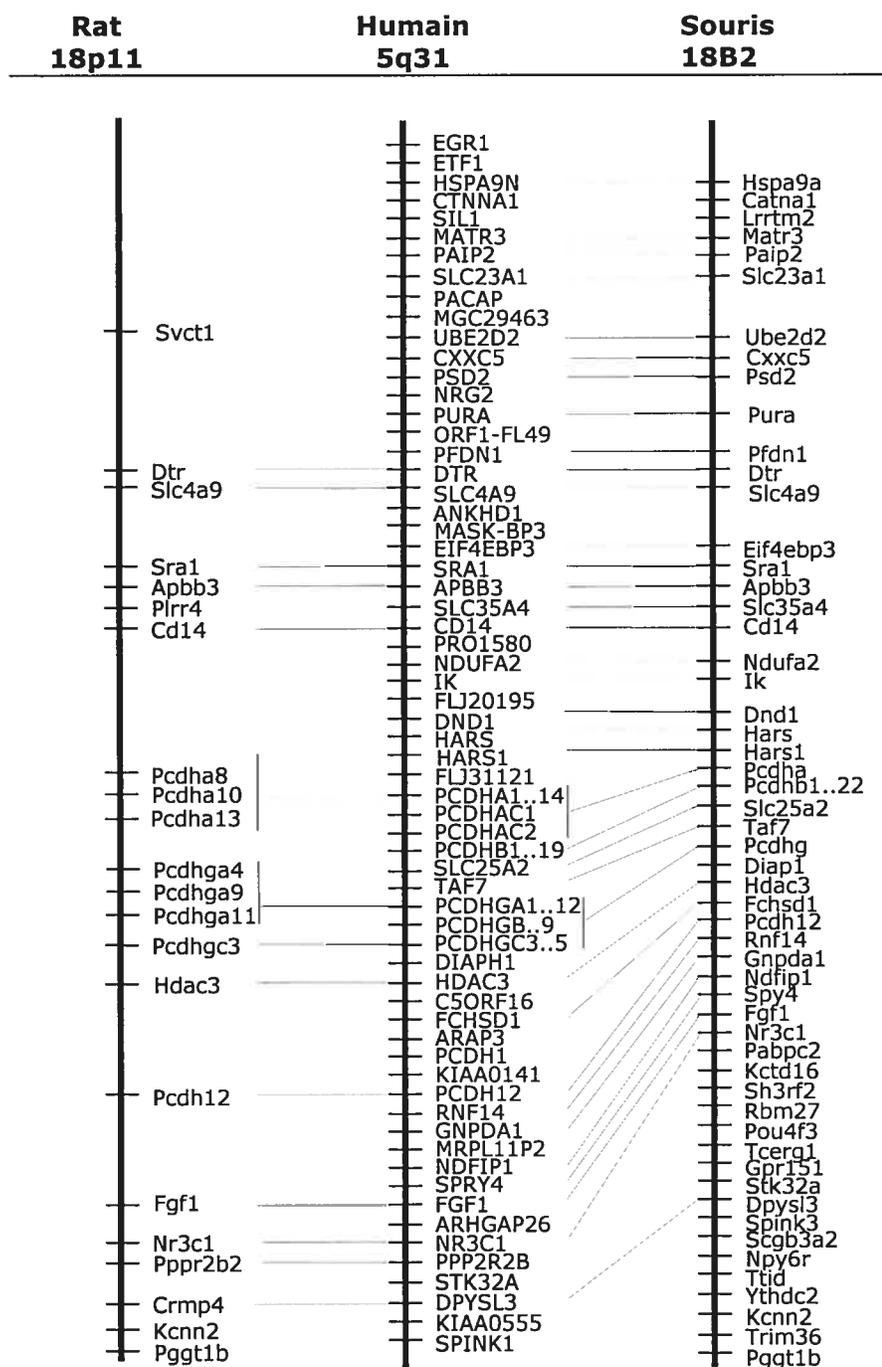


Figure 18 Carte d'homologie de la région du QTL1

Représentation de la région homologue à la région du QTL1 chez le rat, chez l'humain (chromosome 5) et chez la souris (chromosome 18). Gènes confirmés seulement (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

8.3 Arrière-plan génétique Lewis

L'arrière-plan génétique d'une lignée congénique doit être pris en considération lors de l'évaluation du phénotype.

La souche L.S1 n'a pas démontré de différence de pression artérielle lorsque comparée avec celle de la souche LEW. Ceci contraste avec les résultats obtenus avec les lignées congéniques avec un arrière-plan S. Plusieurs groupes ont aussi tenté de démontrer une augmentation de la pression artérielle dans des lignées congéniques où un segment génomique d'une souche hypertendue est transféré dans une souche normotendue¹⁹⁴. Il est beaucoup plus difficile d'augmenter la pression artérielle en utilisant un arrière-plan normotendu.

Ceci peut être dû au fait qu'un arrière-plan permissif non défini est requis pour permettre à la pression artérielle d'augmenter, et que le transfert d'un QTL contenant un ou des gène(s) avec des allèles hypertendus dans un arrière-plan normotendu n'est pas suffisant pour générer l'hypertension. Donc, la seule présence du QTL1 avec les allèles de la souche hypertendue S n'est pas suffisant pour faire varier la pression artérielle du congénique L.S1.

Il est aussi possible que des gènes de susceptibilité, ici des gènes de résistance, soient impliqués. Donc, l'hypertension se développe en l'absence des gènes de résistance, mais ne se développe pas en leur présence. Lorsque le QTL hypertendu est transféré dans l'arrière-plan normotendu, sans enlever ou neutraliser les gènes qui confèrent la résistance à l'hypertension, la pression artérielle n'augmente pas. L'effet d'un allèle augmentant la pression artérielle est masqué et devient invisible. Les QTLs distribués dans le génome hypertendu S sont donc nécessaires mais individuellement non suffisants à une augmentation de la pression artérielle.

La combinaison de plusieurs QTLs à travers le génome dans une même lignée congénique pourrait faire varier la pression artérielle. Une façon d'atteindre cet objectif est de construire un double congénique avec un arrière-plan génétique LEW, en combinant des QTLs de plusieurs chromosomes. Ainsi, peut-être que l'effet sur la pression artérielle pourrait être détecté.

Chapitre 9 - Influence des facteurs génétiques et environnementaux

9.1 Facteurs environnementaux

Chacune des étapes d'une stratégie pour localiser un QTL comporte des facteurs limitant la validité des résultats. Par exemple, des facteurs comme l'âge, le sexe et la diète peuvent faire varier les résultats et remettre en question la validité de l'expérience et l'isolation du QTL. Ces facteurs environnementaux doivent être considérés lors de l'analyse des résultats.

9.1.1 Sexe de l'animal

La détection de différents QTLs pour la pression artérielle chez des mâles et des femelles démontre qu'il existe certains effets spécifiques au sexe dans la susceptibilité à l'hypertension¹⁹⁵⁻¹⁹⁷. Chez les rats femelles, l'hypertension apparaît plus tardivement et progresse de façon plus modérée que chez les mâles. De nombreuses hormones féminines, comme l'œstrogène, peuvent interférer avec le contrôle de la pression artérielle. Par contre, la différence observée dans la pression artérielle entre mâles et femelles ne peut être expliquée uniquement par les hormones et impliquerait un différent groupe de gènes régulateurs.

La plupart des analyses de liaison génétique pour la pression sanguine ont été effectuées avec des rats mâles. Les rats mâles développent une hypertension plus rapidement que les femelles, et vu leur croissance plus grande, la mesure de pression artérielle peut se faire plus rapidement. C'est pourquoi la majorité du criblage fait dans le but d'isoler des QTLs pour la pression artérielle n'a pas évalué l'effet du sexe sur l'expression des QTLs observés.

Des QTLs communs aux mâles et aux femelles existent, mais la présence de QTLs spécifique au sexe crée un besoin pour des études spécifiques avec des femelles et pour des interventions spécifiques aux femmes chez l'humain.

Pour la souche S.L3, nous avons étudié à la fois des rats mâles et des rats femelles. On observe que la MAP chez les femelles (141 ± 3 mmHg) est plus basse que chez les mâles (149 ± 4 mmHg) (tableau VII). Ensuite, malgré le fait que la moyenne de la pression artérielle ne démontre pas de différence significative avec la souche témoin S, il est intéressant de noter que la pression artérielle suit une tendance identique à la souche contrôle S femelle dans les premiers jours, mais qu'elle chute à partir du 6e jour. Cependant, avec les résultats présents, il n'est pas possible de déterminer si le QTL1 est dépendant du sexe.

9.1.2 Âge de l'animal

La plupart des analyses de liaison génétique ont été effectuées chez des animaux adultes car la pression artérielle augmente avec l'âge et le développement, et le phénotype est entièrement exprimé seulement à l'âge adulte. Les analyses de télémétrie sont toujours rigoureuses quant à l'âge des rats ; leur pression artérielle est évaluée à partir de 10 semaines.

9.1.3 Diète de l'animal

Les rats utilisés dans cette étude ont été nourris d'une diète à haute teneur en sel, ce qui exacerbe leur hypertension. Il a été démontré que la diète peut faire varier la pression artérielle chez les rats S¹⁹⁸. La prise de sel est imposée à travers la nourriture, il est donc possible que certains rats mangent plus que d'autres. Pour contrer cette variable, le poids des rats sélectionnés pour la télémétrie est situé dans un intervalle précis^{199,200}. Cependant, il est possible que certains rats puissent prendre du poids avec peu de nourriture, surtout entre les lignées congéniques et le rat S. Effectivement, il est important de considérer que l'hypertension peut être reliée au contrôle du poids corporel²⁰¹, comme chez les rats génétiquement hypertendus SHR²⁰².

9.1.4 Méthode de mesure de la pression artérielle

Trois méthodes sont utilisées pour mesurer la pression artérielle chez le rat : le resserrement de la queue, la télémétrie et le cathéter artériel²⁰². La méthode de resserrement de la queue mesure la SAP et implique l'immobilisation de l'extrémité de la queue de l'animal. Toutes les souches consanguines modèles d'hypertension ont été

sélectionnées à l'aide de cette méthode, y compris le rat S¹⁰⁶ original, les rats S et R consanguins¹¹⁶, le rat SHR¹¹⁰ et aussi des souches de souris hypertendues¹⁸⁴. Il s'agit d'une méthode rapide et peu dispendieuse, ce qui permet d'effectuer des mesures à grande échelle. Par contre, les mesures sont indirectes, peu précises, d'une durée de quelques minutes seulement et ne permettent pas de détecter un changement de pression de moins de 10 mmHg. De plus, cette méthode cause un stress à l'animal, imposé par son immobilisation physique, et ceci peut faire varier la pression artérielle. Ensuite, il est important d'être constant dans la période de mesure, car la pression artérielle peut varier selon l'heure du jour et l'heure des repas.

La télémétrie constitue une méthode fiable et précise. Elle est directe, continue et permet une mesure de la pression artérielle à long terme sans interruption. Le fait de mesurer la pression sur 24 h permet de tenir compte des variations diurnes de la pression artérielle. Cependant, elle est plus dispendieuse et invasive, car elle nécessite l'implantation d'une sonde de façon chirurgicale.

9.2 Facteurs génétiques

9.2.1 Arrière-plan génétique

La composition de l'arrière plan génétique de l'animal doit être considérée comme un facteur pouvant influencer les résultats de la pression sanguine. D'un côté, la souche normotendue utilisée lors d'études de populations F₂ peut avoir un effet important. Par exemple, une étude a effectué un criblage du génome en utilisant des populations F₂ dérivées de croisements S x R, S x BN, S x WKY et S x MNS, et a détecté des QTLs sur plusieurs chromosome²⁰³. Certains de ces QTLs sont observés seulement dans un seul des quatre croisements, démontrant ainsi l'effet de l'arrière-plan génétique sur l'expression du phénotype. L'utilisation de plusieurs souches normotendues permet d'introduire des allèles et des arrière-plans génomiques variés au site du QTL, et ainsi augmenter l'éventail de possibilités.

D'un autre côté, l'arrière-plan génétique d'une lignée congénique est important pour observer l'effet d'un trait complexe. La souche L.S1, qui possède un segment de la souche S avec un arrière-plan LEW, n'a pas démontré d'augmentation de pression

artérielle par rapport à la souche LEW. Ceci démontre un rôle important du reste du génome dans la détermination de la pression artérielle. Il est difficile de déterminer le rôle précis de l'arrière-plan génétique LEW chez la lignée congénique.

Un autre aspect de l'arrière-plan génétique est la possibilité de la présence de loci résiduels provenant de la souche donneuse. Ces loci auraient échappé à la vérification de l'arrière-plan génétique qui est fait à l'aide de marqueurs génétiques polymorphiques distribués à travers le génome. Ils peuvent interagir avec le QTL et influencer la pression artérielle.

Pendant la construction d'une lignée congénique, au processus de fixation de la région d'intérêt dans un état homozygote, il est possible qu'un QTL non lié soit conservé ailleurs dans le génome. Ce locus peut être conservé de façon homozygote, hétérozygote ou être perdu en cours. La présence d'un QTL inconnu peut influencer l'interprétation de l'effet observé sur la pression sanguine de la lignée congénique¹²⁶.

9.2.2 Effet de position

La fonction d'un gène ne dépend pas uniquement de lui-même, car elle est influencée par d'autres gènes ou d'autres séquences d'ADN près du gène²⁰⁴. Une séquence située près d'un gène peut jouer un rôle d'activation ou de répression sur le promoteur du gène. Cette séquence peut se retrouver près du gène suite à un réarrangement chromosomique durant la méiose ou la mitose (duplication, délétion, inversion, translocation équilibrée ou non, transposition).

Il est important de considérer ces effets de l'arrière-plan génétique, car ceux-ci peuvent influencer les résultats. Il est difficile par la suite de déterminer s'il faut attribuer un effet sur la pression artérielle au fragment chromosomique substitué dans la lignée congénique ou simplement à des effets diffus de l'arrière-plan génétique. La stratégie pour évaluer si un effet de position est responsable d'une variation dans la pression artérielle d'une lignée congénique est de construire une lignée congénique possédant un fragment chromosomique substitué juste à côté mais sans chevaucher celui de la souche précédente¹²⁶.

9.2.3 Interaction entre les QTLs

Présentement, plusieurs QTLs ont été localisés pour l'hypertension essentielle à l'aide du rat S²⁰⁵ (tableau VIII). Un aspect intéressant qui émerge de ces études est qu'il est possible de considérer la pression artérielle, un trait polygénique, comme un fractionnement en de multiples traits monogéniques. Autrement dit, chaque QTL pour la pression artérielle semble fonctionner comme une unité génétique individuelle indépendamment d'autres QTLs dans le contexte d'un arrière-plan génétique approprié.

Les analyses de liaison génétique démontrent la présence de QTL le plus souvent dans de très grands segments chromosomiques. À l'aide de congénique, il est possible de déterminer combien de QTLs se situent dans une région candidate, et permet aussi d'évaluer leur effet individuel et combiné sur la pression artérielle. Par exemple, sur le chromosome 10 du rat S, il a été déterminé qu'un fragment chromosomique déterminé par liaison génétique contenait finalement 3 QTLs isolés, et que ceux-ci agissaient de façon additive²⁰⁶.

Une épistase a été démontrée sur le chromosome 3 du rat Dahl. Deux QTLs avec un effet contraire sur la pression artérielle ont été localisés sur le chromosome 3, à l'aide de plusieurs lignées congéniques. Lorsque ces deux QTLs sont présents dans la même lignée congénique, l'effet du QTL augmentant la pression artérielle est masqué par celui du QTL abaissant la pression artérielle¹⁸⁹. Le fait que le rat LEW contiennent des allèles pouvant augmenter la pression artérielle est surprenant. Des résultats similaires ont été obtenus sur les chromosomes 2²⁰⁷ et 8¹⁹⁰ du rat S. Ces résultats démontrent que pour être normotendue, une souche comme LEW ne doit pas obligatoirement être porteuse d'allèles abaissant la pression artérielle à chacun des QTLs. Donc, la détermination de la pression artérielle chez le rat serait le résultat d'une structure raffinée de QTLs possédant parfois des effets contraires et qui formerait une organisation génétique pouvant être appliquée à d'autres mammifères incluant l'humain.

Tableau VIII QTLs pour la pression sanguine localisés chez le rat Dahl *salt-sensitive* (S).

Chr	Souche contrastante	Nombre de QTLs	Confirmé par lignées congéniques	Référence	Détails
1	LEW	3	Oui	132,208,209	Interaction avec QTLs du chr 10 ²¹⁵
2	WKY	3	Oui	92,210,211	
	MNS	3	Oui	92,172,212-214	
	LEW	1	Oui	132	
3	R	1	Oui	216	Deux QTLs → épistasie ¹⁸⁹
	LEW	2	Oui	132,189	
5	LEW	2	Oui	132,217,218	Deux QTLs avec effets opposés sur la pression sanguine ¹⁹⁰
7	R	1	Oui	219,220	
8	LEW	2	Oui	132,190	
9	R	1	Oui	221	
10	MNS	2	Oui	92,222-224	Interaction avec QTLs du chr 2 ²¹⁵
	LEW	3	Oui	206,224-226	
12	WKY	1	Non	227	Trois QTLs additifs ²⁰⁶
13	R	1	Oui	228,229	Trois QTLs additifs ²⁰⁶
	BN	1	Oui	230,231	
15	WKY	1	Non	232,233	
16	LEW	1	Oui	132,234,235	Trois QTLs additifs ²⁰⁶
	BN	1	Oui	236	
17	LEW	1	Oui	132,237	Trois QTLs additifs ²⁰⁶
18	LEW	2	Oui	132	
	BN	1	Oui	238,239	

Tableau adapté de Deng A.Y.²⁰⁵. La souche contrastante est la souche de rat normotendue impliquée dans la localisation du QTL sur le chromosome. Chr, chromosome; S, Dahl *salt-sensitive*; LEW, Lewis; WKY, Wistar-Kyoto; MNS, Milan *normotensive*; R, Dahl *salt-resistant*; BN, Brown-Norway.

À première vue, on assume que les effets de multiples QTLs sont additifs. Par contre, dans le cas d'une maladie complexe comme l'hypertension, il existe des interactions épistatiques entre les QTLs et parmi les QTLs²⁴⁰. Une épistasie est une dominance d'un gène sur un autre. Cette interaction est inévitable lorsqu'on observe le nombre de différents QTLs qui ont été isolés à travers le génome, et l'effet drastique que certains de ces QTLs ont sur la pression artérielle lorsqu'on les évalue séparément. Donc, ces QTLs interagissent entre eux, et ne contribuent pas tous également à la pression sanguine, c'est-à-dire que l'effet d'un QTL peut masquer celui d'un autre²⁰⁵.

La première observation d'épistasie entre QTLs pour la pression artérielle a été faite à l'aide d'une double lignée congénique²¹⁵. L'effet combiné de segments des chromosomes 2 et 10 est plus faible que celui de leur addition mathématique, suggérant qu'ils interagissent entre eux de façon épistatique. Cette double lignée congénique contenait plusieurs QTLs sur chaque chromosome, il est donc impossible d'en tirer des

conclusions précises. L'interaction démontrée sur le chromosome 3 du rat S est plus précise, car on y observe qu'un seul QTL abaissant la pression artérielle masque la fonction d'un autre QTL augmentant la pression artérielle sur le même chromosome¹⁸⁹.

Conclusion

Cette étude constitue la première à localiser un QTL pour la pression artérielle sur le chromosome 18 du rat en construisant plusieurs lignées congéniques. En utilisant des lignées congéniques formées d'un croisement Dahl *salt-sensitive* et Lewis, nous avons confirmé la présence de ce QTL prédit par analyse de liaison génétique. Cette étude a permis de cartographier avec plus de précision le chromosome 18 du rat, à l'aide de dizaines de nouveaux marqueurs microsatellites, ce qui est essentiel à toute étude de QTL.

Prochainement, la pression artérielle de plusieurs autres sous-souches congéniques sur le chromosome 18 pourra être évaluée. Celles-ci vont assurément apporter de nouveaux résultats, qui vont améliorer la localisation du ou des QTL(s) sur le chromosome 18. L'analyse de double congéniques avec d'autres chromosomes sera aussi intéressante. Pour ce qui est de la lignée congénique avec arrière-plan LEW, probablement qu'une combinaison de multiples chromosomes sera nécessaire pour observer un effet sur la pression artérielle.

Lorsque la région du QTL1 sera réduite à une grandeur d'environ 1 à 2 cM, il sera possible d'évaluer des gènes candidats. Plusieurs régions du génome humain homologues au chromosome 18 du rat ont été liées à l'hypertension essentielle. Il sera intéressant de faire un rapprochement entre l'identité du QTL chez le rat et son homologue chez l'humain, afin de mieux comprendre cette maladie qui affecte tant de gens et dont les causes exactes restent encore vagues.

Reference List

1. Campbell, N. A. Circulation et échanges gazeux. *In* R. Mathieu (ed.), *Biologie*, 3 ed, pp. 820-828. St-Laurent: Éditions du Renouveau Pédagogique Inc., 1995.
2. Lewicki, J. A. and Preotter, A. A. Physiological studies of the natriuretic peptide family. *In* J. H. Laragh and B. M. Brenner (eds.), *Hypertension: pathology, diagnosis and management*, pp. 1029-1053. New York: Raven Press Ltd, 1995.
3. Kimura, G. and Brenner, B. M. The renal basis for salt sensitivity in hypertension. *In* J. H. Laragh and B. M. Brenner (eds.), *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*, 2 ed, pp. 1569-1605. New York: Raven Press Ltd, 1995.
4. Robertson, J. I. S. Renin and angiotensin: a history review. *The Renin-Angiotensin System*, Robertson JIS, Nicholls MG ed, pp. 1-18. London: Gower Medicas Publishing, 1993.
5. Timmermans, P. B., Wong, P. C., Chiu, A. T., and et al. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptors antagonists. *Pharmacol.Rev.*, 45: 205-251, 1993.
6. Iwai, N. and Inagami, T. Identification of two subtypes in the rat type I angiotensin II receptor. *FEBS Lett.*, 298: 257-260, 1992.
7. Sasamura, H., Hein, L., Krieger, J. E., and et al. Cloning, characterization, and expression of two angiotensin receptors (AT-1) isoforms from the mouse genome. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, 185: 253-259, 1992.
8. Kakar.S.S., Sellers, J. c., Devor, D. C., Musgrove, L. C., and Neill, J. S. Angiotensin II type-1 receptor subtype cDNAs:differential tissue expression and hormonal regulation. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, 183: 1090-1096, 1992.
9. Burson, J. M., Aguilera, G., Gross, K. W., and Sigmund, C. D. Differential expression of angiotensin receptor 1A and 1B in mouse. *Am.J.Physiol.*, 267: E260-E267, 1994.
10. Ito, M., Oliverio, M. I., Mannon, P. J., Best, C. F., Maeda, N., Smithies, O., and Coffman, T. M. Regulation of blood pressure by type 1A angiotensin II receptor gene. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 92: 3521-3525, 1995.
11. Davisson, R. L., Kim, H. S., Krege, J. H., Lager, D. J., Smithies, O., and Sigmund, C. D. Complementation of reduced survival, hypotension and renal abnormalities in angiotensinogen deficient mice by the human renin and human angiotensinogen genes. *J.Clin.Invest*, 99: 1258-1264, 2000.

12. Chen, X. M., Li, W. G., Yoshida, H., Tsuchida, S., Nishimura, H., Takemoto, F., Okubo, S., Fogo, A., Matsusaka, T., and Ichikawa, I. Targeting deletion of angiotensin type 1B receptor gene in the mouse. *Am.J.Physiol.Renal.Physiol.*, 41: F299-F304, 1997.
13. Nicholls, M. G., Richards, A. M., and Yandle, T. G. The renin-angiotensin system. *In* G. Mancia, J. Chalmers, S. Julius, T. Saruta, M. Weber, A. Ferrari, and I. Wilkinson (eds.), *Manual of hypertension*, pp. 77-96. Londres: Harcourt Publishers Limited, 2002.
14. Snustad, D. P. and Simmons, M. J. Inheritance of complex traits. *Principles of genetics*, 2 ed, pp. 91-115. New York, NY: John Wiley and Sons, Inc., 2000.
15. Rapp, J. P. Genetic analysis of inherited hypertension in the rat. *Physiol.Rev*, 80: 135-172, 2000.
16. Gelehrter, T. D., Collins, F. S., and Ginsburg, D. Population genetics and multifactorial inheritance. *In* P. J. Kelly (ed.), *Principles of medical genetics*, 2nd ed, pp. 43-60. Baltimore, MA: Williams and Wilkins, 1998.
17. Vasan, R. S., Beiser, A., Seshadri, S., Larson, M. G., Kannel, W. B., D'Agostino, R. B., and Levy, D. Residual lifetime risk for developing hypertension in middle-aged women and men: The Framingham Heart Study. *JAMA*, 287: 1003-1010, 2002.
18. The sixth report of the joint national committee on the prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. *Arch.Intern.Med.*, 157: 2413-2446, 1997.
19. Kannel, W. B. Elevated systolic blood pressure as a cardiovascular risk factor. *Am.J.Cardiol.*, 85: 251-255, 2000.
20. Mosterd, A., D'Agostino, R. B., Silbershatz, H., Sytkowski, P. A., Kannel, W. B., Grobbee, D. E., and Levy, D. Trends in the prevalence of hypertension, antihypertensive therapy, and left ventricular hypertrophy from 1950 to 1989. *N.Engl.J.Med*, 340: 1221-1227, 1999.
21. Pohl, J. E. F., Preston, R. A., Epstein, M., Grassi, G., Whitworth, J. A., and Saruta, T. Specific (secondary) causes of hypertension. *In* G. Mancia, J. Chalmers, S. Julius, T. Saruta, M. Weber, A. Ferrari, and I. Wilkinson (eds.), *Manual of hypertension*, 1 ed, pp. 187-256. London: Harcourt Publishers Limited, 2002.
22. Smulyan, H., Asmar, R. G., Rudnicki, A., London, G. M., and Safar, M. E. Comparative effects of aging in men and women on the properties of the arterial tree. *J.Am.Coll.Cardiol.*, 37: 1374-1380, 2001.

23. Staessen, J. A., van der Heijden-Spek, J. J., Safar, M. E., Den Hond, E., Gasowski, J., Fagard, R. H., Wand, J. G., Boudier, H. A., and Van Bortel, L. M. Menopause and the characteristics of the large arteries in a population study. *J.Hum.Hypertens*, 15: 511-518, 2001.
24. Safar, M. H. Hypertension in women. *Am.J.Hypertension*, 17: 82-87, 2004.
25. Cohen, E., Wheat, M. E., Swiderski, D. M., and Charney, P. Hypertension in women. *In* J. H. Laragh and B. M. Brenner (eds.), *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*, 2 ed, pp. 159-169. New York: Raven Press Ltd, 1995.
26. Lifton, R. P., Gharavi, A. G., and Geller, D. S. Molecular Mechanisms of human hypertension. *Cell*, 104: 545-556, 2001.
27. Lifton, R. P., Dulhy, R. G., Powers, M., and et al. Hereditary hypertension caused by chimeric gene duplications and ectopic expression of aldosterone synthase. *Nature Genetics*, 2: 66-74, 1992.
28. Pascoe, L., Curnow, K. M., Slutker, L., Slutsker, L., Connell, J. M., Speiser, P. W., New, M. I., and White, P. C. Glucocorticoid-suppressible hyperaldosteronism results from hybrid genes created by unequal crossovers between CYP11B1 and CYP11B2. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 89: 8327-8331, 1992.
29. Mune, T., Rogerson, F. M., Nikkila, H., Agarwal, A. K., and White, P. C. Human hypertension caused by mutations in the kidney isozyme of 11beta-hydroxysteroid deshydrogenase. *Nature Genetics*, 10: 394-396, 1995.
30. Hansson, J. H., Nelson-Williams, C., Suzuki, H., Schild, L., Shimkets, R., Lu, Y., Canessa, C., Iwasaki, T., Rossier, B., and Lifton, R. P. Hypertension caused by a truncated epithelial sodium channel gamma subunit: genetic heterogeneity of Liddle syndrome. *Nature Genetics*, 11: 76-82, 1995.
31. Shimkets, R. A., Warnock, D. G., Bositis, C. M., Nelson-Williams, C., Hansson, J. H., Schambelan, M., Gill, J. R. J., Ulick, S., Milora, R. V., Findling, J. W., and et al. Liddle's syndrome: heritable human hypertension caused by mutations in the beta subunit of the epithelial sodium channel. *Cell*, 79: 407-414, 1994.
32. Lifton, R. P. Molecular genetics of human blood pressure variation. *Science*, 272: 676-680, 1996.
33. Hamet, P., Pausova, Z., Adarichev, V., Adaricheva, K., and Tremblay, J. Hypertension: genes and environment. *J.Hypertens*, 16: 397-418, 1998.

34. Chang, S. S., Grunder, S., Hanukoglu, A., and et al. Mutations in subunits of the epithelial sodium channel cause salt wasting with hyperkalemic acidosis, pseudohypoaldosteronism type-1. *Nature Genetics*, 12: 248-253, 1996.
35. Feinleib, M. Genetics and familial aggregation of blood pressure. *In* G. Onesti and C. R. Klimt (eds.), *Hypertension determinants, complications and intervention*, pp. 35-48. New York: Grune and Stratton, 1979.
36. Ward, R. Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. *In* J. H. Laragh and B. M. Brenner (eds.), *Hypertension: pathology, diagnosis and management*, 2 ed, pp. 67-88. New York, NY: Raven Press Ltd., 1995.
37. Snieder, H., Harshfield, G. A., and Treiber, F. A. Heritability of blood pressure and hemodynamica in African- and European-American youth. *Hypertension*, 41: 1196-1201, 2003.
38. Ward, R. Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. *Hypertension: Pathology, Diagnosis and Management*, 811-1000, 1990.
39. Mongeau, J. G., Biron, P., and Sing, C. F. The influence of genetics and household environment upon the variability of normal blood pressure: the Montreal adoption survey. *Clin.Exp.Hypertens*, A8: 653-666, 1986.
40. Page, L. B. Epidemiologic evidence on the etiology of human hypertension and its possible prevention. *Am.Heart J*, 91: 527-534, 1976.
41. The sixth report of the joint national committee on the prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. *Arch.Intern.Med.*, 157: 2413-2446, 1997.
42. Whelton, P. K. Primary Prevention of Hypertension. Clinical and public health advisory from the National High Blood Pressure Education Program. *JAMA*, 288: 1882-1888, 2002.
43. Karanja, N. M. Descriptive characteristics of the dietary patterns used in the Dietary Approaches to Stop Hypertension trial. *J.Am.Diet.Assoc.*, 99(Suppl): S19-S27, 1999.
44. Hamet, P., Pausova, Z., Adarichev, V., Adaricheva, K., and Tremblay, J. Hypertension: genes and environment. *J.Hypertens*, 16: 397-418, 1998.
45. Zerba, K. E. and Sing, C. F. The role of genome type-environment interaction and time in understanding the impact of genetic polymorphisms on lipid metabolism. *Curr.Opin.Lipidol.*, 4: 152-162, 1993.

46. Hamet, P., Pausova, Z., Adarichev, V., Adaricheva, K., and Tremblay, J. Hypertension: genes and environment. *J.Hypertens*, 16: 397-418, 1998.
47. Page, L. B., Damon, A., and Moellering, R. C. Antecedents of cardiovascular disease in six Solomon islands societies. *Circulation*, 49: 1132-1146, 1974.
48. Weinberger, M. H. Salt sensitivity: does it play an important role in the pathogenesis and treatment of hypertension? *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens.*, 5: 205-208, 1996.
49. Hamet, P. and Tremblay, J. Genetic determinants of the stress response in cardiovascular disease. *Metabolism*, 51: 15-24, 2002.
50. Widgren, B. R., Wikstrand, J., Berglund, G., and Anderson, O. K. Increased response to physical and mental stress in men with hypertensive parents. *Hypertension*, 20: 606-611, 1992.
51. Feinleib, M., Garrison, R. J., Fataiz, R., Christian, J. C., Hrubec, Z., Borhani, N. O., Kannel, W. B., Rosenman, R., Schwartz, J. T., and Wagner, J. O. The NHLBI twin study of cardiovascular disease risk factors : methodology and summary of results. *Am.J.Epidemiol.*, 106: 284-295, 1977.
52. Folkow, B. Mental stress and its importance for cardiovascular disorders; physiological aspects, "from-mice-to-man". *Scand.Cardiovasc.J.*, 35: 163-172, 2001.
53. Blake, M. J., Klevay, L. M., Halas, E. S., and Bode, A. M. Blood pressure and heat shock protein expression in response to acute and chronic stress. *Hypertension*, 25: 539-544, 1995.
54. Hamet, P., Malo, D., and Tremblay, J. Genetic basis of increased sensitivity to environmental stress in hypertension. *In* g. Jasmin and L. Proschek (eds.), *Methods and achievements in experimental pathology - stress revisited*, pp. 27-46. Basel: S Karger A.G., 1991.
55. Spiegelman, D., Israel, R. G., Bouchard, C., and Willett, W. C. Absolute fat mass, percent body fat, and body-fat distribution which is the real determinant of blood pressure and serum glucose. *Am.J.Clin.Nutr.*, 55: 1033-1044, 1992.
56. Whyte, H. M. Blood pressure and obesity. *Circulation*, 19: 511-516, 1956.
57. Kannel, W. B., Brand, N., Skinner, J. J. J., Dawber, T. R., and McNamara, P. M. The relation to adiposity to blood pressure and development of hypertension. *Ann.Intern.Med.*, 67: 48-59, 1967.
58. Krieger, D. R. and Landsberg, L. Obesity and hypertension. *In* J. H. Laragh and B. M. Brenner (eds.), *Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management*, 2 ed, pp. 2367-2388. New York, NY: Raven Press, Ltd, 1995.

59. Kanai, H., Matsuzawa, Y., Kotani, K., Keno, P., Kobatake, T., and Nagai, Y. Close correlation of intra abdominal fat accumulation to hypertension in obese women. *Hypertension*, 16: 484-490, 1990.
60. Iwamoto, T., Kita, S., Zhang, J., Blaustein, M. P., Arai, Y., Yoshida, S., Wakimoto, K., Komuro, I., and Katsuragi, T. Salt-sensitive hypertension is triggered by Ca^{2+} entry via Na^{+}/Ca^{2+} exchanger type-1 in vascular smooth muscle. *Nat.Med.*, 10: 1193-1199, 2004.
61. Semplicini, A. and Monari, A. Cell membrane and ion-transport abnormalities in hypertension. In G. Mancia, J. Chalmers, S. Julius, T. Saruta, M. Weber, A. Ferrari, and I. Wilkinson (eds.), *Manual of hypertension*, pp. 111-129. London: Harcourt Publishers Limited, 2002.
62. Aviv, A. The link between cellular Ca^{2+} and $Na^{+}-H^{+}$ exchange in the pathophysiology of essential hypertension. *Am.J.Hypertension*, 9: 703-707, 1996.
63. Siffert, W., Roskopf, D., Siffert, G., Busch, S., Moritz, A., Erbel, R., Sharma, A. M., Ritz, E., Wichmann, H. E., Jakobs, K. H., and Horsthemke, B. Association of a human G-protein beta-3 subunit variant with hypertension. *Nature Genetics*, 18: 45-48, 1998.
64. Manunta, P., Barlassina, C., and Bianchi, G. Adducin in essential hypertension. *FEBS Lett.*, 430: 41-44, 1998.
65. De Wardener, H. E. The primary role of the kidney and salt intake in the aetiology of essential hypertension. *Clin.Sci*, 79: 289-297, 1990.
66. Blaustein, M. P. Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension: a reassessment and a hypothesis. *Am.J.Physiol.*, 232: C167-C173, 1977.
67. Cowley, A. W. Long-term control of arterial blood pressure. *Physiol.Rev*, 72: 231-300, 1992.
68. Haddy, F. J. and Pamnani, M. B. Role of dietary salt in hypertension. *J.Am.Coll.Nutr.*, 14: 428-438, 1995.
69. Hamlyn, J. M., Blaustein, M. P., Bova, S., DuCharme, D. W., Harris, D. W., Mandel, F., Mathews, W. R., and Ludens, J. H. Identification and characterization of a ouabain-like compound from human plasma. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*, 88: 6259-6263, 1991.
70. Bagrov, A. Y., Federova, O. V., Dmitrieva, R. I., Howald, W. N., Hunter, A. P., Kuznetsova, E. A., and Shpen, V. M. Characterization of a urinary bufodienolide Na^{+},K^{+} -ATPase inhibitor in patients after acute myocardial infarction. *Hypertension*, 31: 1097-1103, 1998.

71. Schneider, R., Wray, V., Nimtz, M., Lehmann, W. D., Kirch, U., Antolovic, R., and Schoner, W. Bovine adrenals contain, in addition to ouabain, a second inhibitor of the sodium pump. *J.Biol.Chem.*, 273: 784-792, 1998.
72. Shoner, W. Endogenous cardiac glycosides, a new class of steroid hormones. *Eur.J.Biochem.*, 269: 2440-2448, 2002.
73. Hamlyn, J. M., Ringer, R., Schaeffer, J., Levinson, P. S., Hamilton, B. P., Kowarski, A. A., and Blaustein, M. P. A circulating inhibitor of Na⁺-K⁺ ATPase associated with essential hypertension. *Nature*, 300: 650-652, 1982.
74. Hasewaga, T., Masugi, F., Ogihara, T., and Kumahara, Y. Increase in plasma ouabain-like inhibitor of Na⁺,K⁺ ATPase with high sodium intake in patients with essential hypertension. *J.clin.Hypertens.*, 3: 419-429, 1987.
75. Hamlyn, J. M., Hamilton, B. P., and Manunta, P. Endogenous ouabain, sodium balance and blood pressure: a review and a hypothesis. *J.Hypertens*, 14: 151-167, 1996.
76. Goto, A. and Yamada, K. Putative role of ouabain-like compound in hypertension. *Hypertens.Res.*, 23: S7-S13, 2000.
77. Fedorova, O. V., Lakatta, E. G., and Bagrov, A. Y. Endogenous Na,K pump ligands are differentially regulated during acute NaCl loading of Dahl rats. *Circulation*, 102: 3009-3014, 2000.
78. Ferrari, P. and et al. PST2238: a new antihypertensive compound that antagonizes the long-term pressor effect of ouabain. *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 285: 83-94, 1998.
79. Danilczyk, U. and Penninger, J. Hypertension with a grain of salt. *Nat.Med.*, 10: 1163-1164, 2004.
80. Collins, R., Peto, R., MacMahon, S., Hebert, P., Fiebach, N. H., Eberlein, K. A., Godwin, J., Qizilbash, N., Taylor, J. O., and Hennekens, C. H. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part2. Short-term reductions in blood pressure; overview of randomized drug trials in their epidemiological context. *Lancet*, 335: 827-838, 1990.
81. Isles, C. G., Walker, L. M., Beevers, G. D., Brown, I., Cameron, H. L., Clarke, J., Hawthorne, V., Hole, D., Lever, A. F., and Robertson, J. W. Mortality in patients of the Glasgow Blood Pressure Clinic. *J.Hypertens*, 4: 141-156, 1986.
82. Fagard, R. H., Staessen, J. A., and Thijs, L. Results of intervention trials of antihypertensive treatment versus placebo, no or less intensive treatment. *In* G. Mancia, J. Chalmers, S. Julius, T.

Saruta, M. Weber, A. Ferrari, and I. Wilkinson (eds.), Manual of hypertension, pp. 21-33. Londres: Harcourt Publishers Limited, 2002.

83. Aitman, T. J., Glazier, A. M., Wallace, C. A., Cooper, L. D., Norsworthy, P. J., Wahid, F. N., Al Majali, K. M., Trembling, P. M., Mann, C. J., Shoulders, C. C., Graf, D., St Lezin, E., Kurtz, T. W., Kren, V., Pravenec, M., Ibrahimi, A., Abumrad, N. A., Stanton, L. W., and Scott, J. Identification of Cd36 (Fat) as an insulin-resistance gene causing defective fatty acid and glucose metabolism in hypertensive rats. *Nat.Genet.*, 21: 76-83, 1999.
84. Deng, A. Y., Smith-Mensah, W. H., Hoebee, B., Garrett, M., and Rapp, J. P. Linkage mapping of rat chromosome markers generated from chromosome-sorted DNA. *Mamm.Genome*, 9: 38-43, 1998.
85. Lander, E. S. and Schork, N. J. Genetic dissection of complex traits. *Science*, 265: 2037-2048, 1994.
86. Deng, A. Y., Smith-Mensah, W. H., Hoebee, B., Garrett, M., and Rapp, J. P. Linkage mapping of rat chromosome markers generated from chromosome-sorted DNA. *Mamm.Genome*, 9: 38-43, 1998.
87. Hamet, P., Pausova, Z., Tremblay, J., and Deng, A. Y. Hypertension as a genetic disease. *In* G. Mancia, J. Chalmers, S. Julius, T. Saruta, M. Weber, A. Ferrari, and I. Wilkinson (eds.), Manual of hypertension, pp. 49-75. London: Harcourt Publishers Limited, 2002.
88. Rapp, J. P., Wang, S.-M., and Dene, H. Effect of genetic background on cosegregation of renin alleles and blood pressure in Dahl rats. *Am.J.Hypertension*, 3: 391-396, 1990.
89. Lander, E. S. and Schork, N. J. Genetic dissection of complex traits. *Science*, 265: 2037-2048, 1994.
90. Kato, N. Genetic analysis in human hypertension. *Hypertens.Res.*, 25: 319-327, 2002.
91. Cicila, G. T., Rapp, J. P., Wang, J. M., and et al. Linkage of 11 beta-hydroxylase mutations with altered steroid biosynthesis and blood pressure in the Dahl Rat. *Nat.Genet.*, 3: 343-356, 1993.
92. Deng, Y. and Rapp, J. P. Cosegregation of blood pressure with angiotensin converting enzyme and atrial natriuretic peptide receptor genes using Dahl salt-sensitive rats. *Nature Genetics*, 1: 267-272, 1992.
93. Bianchi, G., Tripodi, G., Casari, G., Salardi, S., Barber, B. R., Garcia, R., Leoni, P., Torielli, L., Cusi, D., Ferrandi, M., Pinna, L. A., Baralle, F. E., and Ferrari, F. P. Two point mutations within adducin genes are involved in blood pressure variation. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 91: 3999-4003, 1994.

94. Hamet, P., Pausova, Z., Adarichev, V., Adaricheva, K., and Tremblay, J. Hypertension: genes and environment. *J.Hypertens*, 16: 397-418, 1998.
95. O'Donnell, C. J., Lindpaintner, K., Larson, M. G., and et al. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting-enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not women in the Framingham Heart Study. *Circulation*, 97: 1766-1772, 1998.
96. Jeunemaître, X., Soubrier, F., Kotelevtsev, Y. V., and et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell*, 71: 169-180, 1992.
97. Deng, A. Y., Dene, H., and Rapp, J. P. Mapping of a quantitative trait locus for blood pressure on rat chromosome 2. *J.Clin.Invest*, 94: 431-436, 1994.
98. Rubattu, S., Struk, B., Kreutz, R., Volpe, M., and Lindpaintner, K. Animal models of genetic hypertension: what can we learn for human hypertension? *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.*, *Suppl.2*: S386-S393, 1995.
99. Robinson, R. *Genetics of the Norway Rat*. Oxford: Pergamon, 1965.
100. Hedrich, H. J. *History, Strains, and Models in the Laboratory Rat*, Krinke, G.J. ed. San Diego: Academic, 2000.
101. Lindsey, J. R. *The Laboratory Rat*. New York: Academic, 1979.
102. Gibbs, R. A., Weinstock, G. M., Metzker, M. L., Muzny, D. M., Sodergren, E. J., Scherer, S., Scott, G., Steffen, D., Worley, K. C., Burch, P. E., Okwuonu, G., Hines, S., Lewis, L., DeRamo, C., Delgado, O., Dugan-Rocha, S., Miner, G., Morgan, M., Hawes, A., Gill, R., Celera, Holt, R. A., Adams, M. D., Amanatides, P. G., Baden-Tillson, H., Barnstead, M., Chin, S., Evans, C. A., Ferreira, S., Fosler, C., Glodek, A., Gu, Z., Jennings, D., Kraft, C. L., Nguyen, T., Pfannkoch, C. M., Sitter, C., Sutton, G. G., Venter, J. C., Woodage, T., Smith, D., Lee, H. M., Gustafson, E., Cahill, P., Kana, A., Doucette-Stamm, L., Weinstock, K., Fectel, K., Weiss, R. B., Dunn, D. M., Green, E. D., Blakesley, R. W., Bouffard, G. G., De Jong, P. J., Osoegawa, K., Zhu, B., Marra, M., Schein, J., Bosdet, I., Fjell, C., Jones, S., Krzywinski, M., Mathewson, C., Siddiqui, A., Wye, N., McPherson, J., Zhao, S., Fraser, C. M., Shetty, J., Shatsman, S., Geer, K., Chen, Y., Abramzon, S., Nierman, W. C., Havlak, P. H., Chen, R., Durbin, K. J., Egan, A., Ren, Y., Song, X. Z., Li, B., Liu, Y., Qin, X., Cawley, S., Worley, K. C., Cooney, A. J., D'Souza, L. M., Martin, K., Wu, J. Q., Gonzalez-Garay, M. L., Jackson, A. R., Kalafus, K. J., McLeod, M. P., Milosavljevic, A., Virk, D., Volkov, A., Wheeler, D. A., Zhang, Z., Bailey, J. A., Eichler, E. E., Tuzun, E., Birney, E., Mongin, E., Ureta-Vidal, A., Woodwark, C., Zdobnov, E., Bork, P., Suyama, M., Torrents, D., Alexandersson, M., Trask, B. J., Young, J. M., Huang, H., Wang, H., Xing, H., Daniels, S., Gietzen, D., Schmidt, J., Stevens, K., Vitt, U., Wingrove, J., Camara, F., Mar, A. M., Abril, J. F., Guigo, R., Smit, A., Dubchak, I., Rubin, E. M., Couronne, O., Poliakov, A., Hubner, N., Ganten, D., Goesele, C., Hummel, O., Kreitler, T., Lee, Y. A., Monti, J.,

- Schulz, H., Zimdahl, H., Himmelbauer, H., Lehrach, H., Jacob, H. J., Bromberg, S., Gullings-Handley, J., Jensen-Seaman, M. I., Kwitek, A. E., Lazar, J., Pasko, D., Tonellato, P. J., Twigger, S., Ponting, C. P., Duarte, J. M., Rice, S., Goodstadt, L., Beatson, S. A., Emes, R. D., Winter, E. E., Webber, C., Brandt, P., Nyakatura, G., Adetobi, M., Chiaromonte, F., Elnitski, L., Eswara, P., Hardison, R. C., Hou, M., Kolbe, D., Makova, K., Miller, W., Nekrutenko, A., Riemer, C., Schwartz, S., Taylor, J., Yang, S., Zhang, Y., Lindpaintner, K., Andrews, T. D., Caccamo, M., Clamp, M., Clarke, L., Curwen, V., Durbin, R., Eyras, E., Searle, S. M., Cooper, G. M., Batzoglu, S., Brudno, M., Sidow, A., Stone, E. A., Venter, J. C., Payseur, B. A., Bourque, G., Lopez-Otin, C., Puente, X. S., Chakrabarti, K., Chatterji, S., Dewey, C., Pachter, L., Bray, N., Yap, V. B., Caspi, A., Tesler, G., Pevzner, P. A., Haussler, D., Roskin, K. M., Baertsch, R., Clawson, H., Furey, T. S., Hinrichs, A. S., Karolchik, D., Kent, W. J., Rosenbloom, K. R., Trumbower, H., Weirauch, M., Cooper, D. N., Stenson, P. D., Ma, B., Brent, M., Arumugam, M., Shteynberg, D., Copley, R. R., Taylor, M. S., Riethman, H., Mudunuri, U., Peterson, J., Guyer, M., Felsenfeld, A., Old, S., Mockrin, S., and Collins, F. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*, 428: 493-521, 2004.
103. Greenhouse, D. D., Festing, M. F. W., Hasan, S., and Cohen, A. L. Genetic Monitoring of Inbred Strains of rats. Stuttgart: Gustav Fisher, 1990.
104. Gill, T. J. I., Smith, G. J., Wissler, R. W., and Krunz, H. W. The rat as an experimental animal. *Science*, 245: 269-276, 1989.
105. Smirk, F. H. and Hall, W. H. Inherited hypertension in rats. *Nature*, 182: 727-728, 1958.
106. Dahl, L. K., Hein, M., and Tassinari, L. Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion. *Nature*, 194: 480-482, 1962.
107. Dahl, L. K., Hein, M., and Tassinari, L. Effects of chronic excess salt ingestion: evidence that genetic factors play an important role in susceptibility to experimental hypertension. *J.Exp.Med.*, 115: 1173-1190, 1963.
108. Ben-Ishay, D., Saliternik, R., and Welner, J. L. Separation of two strains of rats with inbred dissimilar sensitivity to DOCA-salt hypertension. *Experientia*, 28: 1321-1322, 1972.
109. Dupont, J., Dupont, J. C., froment, A., Milon, H., and Vincent, M. Selection of two strains with spontaneously different levels of blood pressure. *Biomedicine*, 19: 36-41, 1973.
110. Okamoto, K. and Aoki, K. Development of strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn.Circ.J.*, 27: 282-293, 1963.

111. Okamoto, K., Yamori, Y., and Nagaoka, A. Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR). *Circ.Res.*, 34: I-143-I-153, 1974.
112. Bianchi, G., Fox, U., and Impasciati, E. The development of a new strain of spontaneously hypertensive rats. *Life Science*, 14: 339-347, 1974.
113. Kuijpers, M. H. M. and Gruys, E. Spontaneous hypertension and hypertensive renal disease in the fawn-hooded rat. *Br.J.Exp.Pathol.*, 65: 181-190, 1984.
114. Markel, A. L. Experimental model of arterial hypertension conditioned by stress (in Russian). *Izvestia Acad.Nauk SSSR Seria Biol.*, 3: 466-469, 1985.
115. Heller, J., Hellerova, S., Dobesova, Z., Kunès, J., and Zicha, J. The Prague hypertensive rat: a new model of genetic hypertension. *Clin.Exp.Hypertens*, 15: 818, 1993.
116. Rapp, J. P. and Dene, H. Development and characteristics of Dahl salt-sensitive and salt resistance rats. *Hypertension*, 7: 340-349, 1985.
117. Dahl, L. K. Primary role of renal homographs in setting chronic blood pressure levels in rats. *Circ.Res.*, 36: 692-696, 1975.
118. Tobian, L., Lange, L., and Azar, S. Reduction of natriuretic capacity and renin release in isolated, blood-perfused kidneys of Dahl hypertensive-prone rats. *Circ.Res.*, 43 (Suppl I): I92-I98, 1978.
119. De Jong, W. Experimental and Genetic Models of Hypertension. Handbook of Hypertension collection Elsevier Science, 1984.
120. Rayson, B. M. Na,K-ATPase regulation in Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats. *J.Biol.Chem.*, 263: 11056-11058, 1988.
121. Titze, J., Rittweger, J., Dietsch, P., Krause, H., Schwind, K. H., Engelke, K., Lang, R., Kirsch, K. A., Luft, F. C., and Hilgers, K. L. Hypertension, sodium retention, calcium excretion and osteopenia in Dahl rats. *J.Hypertension*, 22: 803-810, 2004.
122. Chen, P. Y., St-John, P. L., Kirk, K. A., Abrahamson, D. R., and Sanders, P. W. Hypertensive nephrosclerosis in the Dahl/Rapp rat. Initial sites of injury and effect of dietary L-arginine administration. *Lab.Invest.*, 68: 174-184, 1993.
123. Sanders, P. W. and Wang, P. X. Activation of the Fas/Fas ligand pathway in hypertensive renal disease in Dahl/Rapp rats. *BMC Nephrol.*, 3: 1, 2002.

124. Ying, W. Z., Wang, P. X., and Sanders, P. W. Induction of apoptosis during development of hypertensive nephrosclerosis. *Kidney Int.*, 58: 2007-2017, 2000.
125. Ginn, D. I., Baptista, C. A. C., Alam, K., Deng, A. Y., Cicila, G. T., Margolius, H. S., and Rapp, J. P. Estimate of the genetic divergence between inbred Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats. *J.Hypertension*, 11: 477-481, 1993.
126. Deng, A. Y. In search of hypertension genes in Dahl salt-sensitive rats. *J.Hypertension*, 16: 1707-1717, 1998.
127. Rapp, J. P. and Deng, A. Y. Detection and positional cloning of blood pressure quantitative trait loci: is it possible? *Hypertension*, 25: 1121-1128, 1995.
128. Lander, E. S. and Schork, N. J. Genetic dissection of complex traits. *Science*, 265: 2037-2048, 1994.
129. Deng, A. Y. Determining quantitative trait loci for blood pressure in the rat-implication for human genetic hypertension. *Human Polygenic Diseases: Animal model*, pp. 81-111. Netherlands: Harwood Academic Publishers, 1998.
130. Lander, E. S. and Schork, N. J. Genetic dissection of complex traits. *Science*, 265: 2037-2048, 1994.
131. Lander, E. S. and Kruglyak, L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat.Genet.*, 11: 241-247, 1995.
132. Garrett, M. R., Dene, H., Walder, R., Zhang, Q., Cicila, G. T., Assadnia, S., Deng, A. Y., and Rapp, J. P. Genomic scan and congenic strains for blood pressure quantitative trait loci using Dahl salt-sensitive rats. *Genome Research*, 8: 711-723, 1998.
133. Frantz, S. A., Kaiser, M. A., Gardiner, S., Gauguier, D., Vincent, M., Thompson, J. R., Bennett, T., and Samani, N. J. Successful isolation of a rat chromosome 1 blood pressure QTL in reciprocal congenic strain. *Hypertension*, 32: 639-646, 1998.
134. Markel, P., Shu, P., Ebeling, C., Carlson, G. A., Nagle, D. L., Smutko, J. S., and Moore, K. J. Theoretical and empirical issues for marker-assisted breeding of congenic mouse strains. *Nat.Genet.*, 17: 280-284, 1997.
135. Jeffs, B., Negrin, C. D., Graham, D., Clark, J. S., Anderson, N. H., Gauguier, D., and Dominiczak, A. F. Applicability of a "speed" congenic strategy to dissect blood pressure quantitative trait loci on rat chromosome 2. *Hypertension*, 35: 179-187, 2000.

136. Meng, H., Garrett, M. R., Dene, H., and Rapp, J. P. Localization of a blood pressure QTL to a 2.4-cM interval on rat chromosome 9 using congenic strains. *Genomics*, *81*: 210-220, 2003.
137. Joe, B., Garrett, M. R., Dene, H., and Rapp, J. P. Substitution mapping of a blood pressure quantitative trait locus to a 2.73 Mb region on rat chromosome 1. *J.Hypertens*, *21*: 2077-2084, 2003.
138. Garrett, M. R. and Rapp, J. P. Defining the blood pressure QTL on chromosome 7 in Dahl rats by a 177-kb congenic segment containing *Cyp11b1*. *Mamm.Genome*, *14*: 268-273, 2003.
139. Meng, H., Garrett, M. R., Dene, H., and Rapp, J. P. Localization of a blood pressure QTL to a 2.4-cM interval on rat chromosome 9 using congenic strains. *Genomics*, *81*: 210-220, 2003.
140. Joe, B., Garrett, M. R., Dene, H., and Rapp, J. P. Substitution mapping of a blood pressure quantitative trait locus to a 2.73 Mb region on rat chromosome 1. *J.Hypertens*, *21*: 2077-2084, 2003.
141. Garrett, M. R. and Rapp, J. P. Defining the blood pressure QTL on chromosome 7 in Dahl rats by a 177-kb congenic segment containing *Cyp11b1*. *Mamm.Genome*, *14*: 268-273, 2003.
142. Meng, H., Garrett, M. R., Dene, H., and Rapp, J. P. Localization of a blood pressure QTL to a 2.4-cM interval on rat chromosome 9 using congenic strains. *Genomics*, *81*: 210-220, 2003.
143. Garrett, M. R., Meng, H., Rapp, J. P., and Joe, B. Locating a blood pressure quantitative trait locus within 117 kb on the rat genome : substitution mapping and renal expression analysis. *Hypertension*, *45*: 451-459, 2005.
144. Snustad, D. P. and Simmons, M. J. Linkage, crossing over, and chromosome mapping in eukaryotes. *Principles of genetics*, 2 ed, pp. 167-189. New York, NY: John Wiley and Sons, Inc, 2000.
145. Snustad, D. P. and Simmons, M. J. *Genomics. Principles of genetics*, 2 ed, pp. 553-584. New York, NY: John Wiley and Sons, Inc., 2000.
146. Gibbs, R. A., Weinstock, G. M., Metzker, M. L., Muzny, D. M., Sodergren, E. J., Scherer, S., Scott, G., Steffen, D., Worley, K. C., Burch, P. E., Okwuonu, G., Hines, S., Lewis, L., DeRamo, C., Delgado, O., Dugan-Rocha, S., Miner, G., Morgan, M., Hawes, A., Gill, R., Celera, Holt, R. A., Adams, M. D., Amanatides, P. G., Baden-Tillson, H., Barnstead, M., Chin, S., Evans, C. A., Ferreira, S., Fosler, C., Glodek, A., Gu, Z., Jennings, D., Kraft, C. L., Nguyen, T., Pfannkoch, C. M., Sitter, C., Sutton, G. G., Venter, J. C., Woodage, T., Smith, D., Lee, H. M., Gustafson, E., Cahill, P., Kana, A., Doucette-Stamm, L., Weinstock, K., Fechtel, K., Weiss, R. B., Dunn, D. M., Green, E. D., Blakesley, R. W., Bouffard, G. G., De Jong, P. J., Osoegawa, K., Zhu, B., Marra, M., Schein, J., Bosdet, I., Fjell, C., Jones, S., Krzywinski, M., Mathewson, C., Siddiqui, A., Wye, N., McPherson, J., Zhao, S.,

- Fraser, C. M., Shetty, J., Shatsman, S., Geer, K., Chen, Y., Abramzon, S., Niernan, W. C., Havlak, P. H., Chen, R., Durbin, K. J., Egan, A., Ren, Y., Song, X. Z., Li, B., Liu, Y., Qin, X., Cawley, S., Worley, K. C., Cooney, A. J., D'Souza, L. M., Martin, K., Wu, J. Q., Gonzalez-Garay, M. L., Jackson, A. R., Kalafus, K. J., McLeod, M. P., Milosavljevic, A., Virk, D., Volkov, A., Wheeler, D. A., Zhang, Z., Bailey, J. A., Eichler, E. E., Tuzun, E., Birney, E., Mongin, E., Ureta-Vidal, A., Woodwark, C., Zdobnov, E., Bork, P., Suyama, M., Torrents, D., Alexandersson, M., Trask, B. J., Young, J. M., Huang, H., Wang, H., Xing, H., Daniels, S., Gietzen, D., Schmidt, J., Stevens, K., Vitt, U., Wingrove, J., Camara, F., Mar, A. M., Abril, J. F., Guigo, R., Smit, A., Dubchak, I., Rubin, E. M., Couronne, O., Poliakov, A., Hubner, N., Ganten, D., Goesele, C., Hummel, O., Kreitler, T., Lee, Y. A., Monti, J., Schulz, H., Zimdahl, H., Himmelbauer, H., Lehrach, H., Jacob, H. J., Bromberg, S., Gullings-Handley, J., Jensen-Seaman, M. I., Kwitek, A. E., Lazar, J., Pasko, D., Tonellato, P. J., Twigger, S., Ponting, C. P., Duarte, J. M., Rice, S., Goodstadt, L., Beatson, S. A., Emes, R. D., Winter, E. E., Webber, C., Brandt, P., Nyakatura, G., Adetobi, M., Chiaromonte, F., Elnitski, L., Eswara, P., Hardison, R. C., Hou, M., Kolbe, D., Makova, K., Miller, W., Nekrutenko, A., Riemer, C., Schwartz, S., Taylor, J., Yang, S., Zhang, Y., Lindpaintner, K., Andrews, T. D., Caccamo, M., Clamp, M., Clarke, L., Curwen, V., Durbin, R., Eyas, E., Searle, S. M., Cooper, G. M., Batzoglou, S., Brudno, M., Sidow, A., Stone, E. A., Venter, J. C., Payseur, B. A., Bourque, G., Lopez-Otin, C., Puente, X. S., Chakrabarti, K., Chatterji, S., Dewey, C., Pachter, L., Bray, N., Yap, V. B., Caspi, A., Tesler, G., Pevzner, P. A., Haussler, D., Roskin, K. M., Baertsch, R., Clawson, H., Furey, T. S., Hinrichs, A. S., Karolchik, D., Kent, W. J., Rosenbloom, K. R., Trumbower, H., Weirauch, M., Cooper, D. N., Stenson, P. D., Ma, B., Brent, M., Arumugam, M., Shteynberg, D., Copley, R. R., Taylor, M. S., Riethman, H., Mudunuri, U., Peterson, J., Guyer, M., Felsenfeld, A., Old, S., Mockrin, S., and Collins, F. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*, 428: 493-521, 2004.
147. Snustad, D. P. and Simmons, M. J. Variation in chromosomes number and structure. *Principles of genetics*, 2 ed, pp. 138-189. New York, NY: John Wiley and Sons, Inc, 2000.
148. Mackay, T. F. Quantitative trait loci in *Drosophila*. *Nat.Rev.Genet.*, 2: 11, 2001.
149. Korstanje, R. and Paigen, B. From QTL to gene: the harvest begins. *Nature Genetics*, 31: 235, 2002.
150. Pravenec, M., Wallace, C., Aitman, T. J., and Kurtz, T. W. Gene expression profiling in hypertension research: a critical perspective. *Hypertension*, 41: 3-8, 2003.
151. Veerasingham, S. J., Sellers, K. W., and Raizada, M. K. Functional genomics as an emerging strategy for the investigation of central mechanisms in experimental hypertension. *Biophysics and molecular biology*, 84: 107-123, 2004.
152. Novak, J. P. Characterization of variability in large-scale gene expression data: implications for study design. *Genomics*, 79: 104-113, 2004.

153. Herrera, V. L., Tsikoudakis, A., Didishvili, T., Ponce, L. R., Bagamasbad, P., Gantz, D., Herscovitz, H., Van Tol, A., and Ruiz-Opazo, N. Analysis of gender-specific atherosclerosis susceptibility in transgenic [hCETP]25(DS) rat model. *Atherosclerosis*, 177: 9-18, 2004.
154. Michalkiewicz, M., Michalkiewicz, T., Ettinger, R. A., Rutledge, E. A., Fuller, J. M., Moralejo, D. H., Van Yserloo, B., MacMurray, A. J., Kwitek, A. E., Jacob, H. J., Lander, E. S., and Lemmark, A. Transgenic rescue demonstrates involvement of the *Ian5* gene in T cell development in the rat. *Physiol Genomics*, 19: 228-232, 2004.
155. Baltatu, O. and Bader, M. Brain renin-angiotensin system - lessons from functional genomics. *Neuroendocrinology*, 78: 253-259, 2003.
156. Kovacs, P., Voigt, B., and Kloting, I. Novel quantitative trait loci for blood pressure and related traits on rat chromosome 1, 10 and 18. *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 235: 343-348, 1997.
157. Stoll, M., Kwitek-Black, A. E., Cowley, A. W., Jr., Harris, E. L., Harrap, S. B., Krieger, J. E., Printz, M. P., Provoost, A. P., Sassard, J., and Jacob, H. J. New target regions for human hypertension via comparative genomics. *Genome Res.*, 10: 473-482, 2000.
158. Wright, F. A., O'Connor, D. T., Roberts, E., Kutey, G., Berry, C. C., Yoneda, L. U., Timberlake, D., and Schlager, G. Genome scan for blood pressure loci in mice. *Hypertension*, 34: 625-630, 1999.
159. Mattson, D. L., Kunert, M. P., Kaldunski, M. L., Greene, A. S., Roman, R. J., Jacob, H. J., and Cowley, A. W., Jr. Influence of diet and genetics on hypertension and renal disease in Dahl salt-sensitive rats. *Physiol Genomics*, 16: 194-203, 2004.
160. Cowley, A. W., Liang, M., Roman, R. J., Greene, A. S., and Jacob, H. J. Consomic rat model systems for physiological genomics. *Acta Physiol.Scand.*, 181: 585-592, 2004.
161. Stoll, M., Cowley, A. W., Jr., Tonellato, P. J., Greene, A. S., Kaldunski, M. L., Roman, R. J., Dumas, P., Schork, N. J., Wang, Z., and Jacob, H. J. A genomic-systems biology map for cardiovascular function. *Science*, 294: 1723-1726, 2001.
162. DeStefano, A. L., Baldwin, C. T., Burzstyn, M., Gavras, I., Handy, D. E., Joost, O., Martel, T., Nicolaou, M., Schwartz, F., Streeten, D. H. P., Farrer, L. A., and Gavras, H. Autosomal dominant orthostatic hypotensive disorder maps to chromosome 18q. *Am.J.Hum.Genet.*, 63: 1425-1430, 1998.
163. Pankow, J. S., Rose, K. M., Oberman, A., Hunt, s. C., Atwood, L. D., Djoussé, L., Province, M. A., and Rao, D. C. Possible locus on chromosome 18q influencing postural systolic blood pressure changes. *Hypertension*, 36: 471-476, 2000.

164. Atwood, L. D., Samollow, P. B., Hixson, J. E., Stern, M. P., and MacCluer, J. W. Linkage of systolic blood pressure to D21S1440 in Mexican Americans. *Am.J.Hum.Genet.*, 65: A241, 1999.
165. Kristjansson, K., Manolescu, A., Kristinsson, A., Hardarson, T., Knudsen, H., Ingason, S., Thorleifsson, G., Frigge, M. L., Kong, A., Gulcher, J. R., and Stefansson, K. Linkage of essential hypertension to chromosome 18q. *Hypertension*, 39: 1044-1049, 2002.
166. Rutherford, S., Johnson, M. P., and Griffiths, L. R. Sibpair studies implicate chromosome 18 in essential hypertension. *Am.J.Med.Genet.*, 126A: 241-247, 2004.
167. Liu, W., Zhao, W., and Chase, G. Genome scan meta-analysis for hypertension. *Am.J.Hypertension*, 17: 1100-1106, 2000.
168. Caulfield, M. J., Munroe, P. B., Pembroke, J. C., Samani, N. J., Dominiczak, A. F., Brown, M., Benjamin, N., Webster, J., Ratcliffe, P., O'Shea, S., Papp, J., Taylor, E., Dobson, R., Knight, J., Newhouse, S., Hooper, S., Lee, W., Brain, N., Clayton, D., Lathrop, M., Farrall, M., and Connell, J. Genome-wide mapping of human loci for essential hypertension. *Lancet*, 361: 2118-2123, 2003.
169. Stoll, M., Kwitek-Black, A. E., Cowley, A. W., Jr., Harris, E. L., Harrap, S. B., Krieger, J. E., Printz, M. P., Provoost, A. P., Sassard, J., and Jacob, H. J. New target regions for human hypertension via comparative genomics. *Genome Res.*, 10: 473-482, 2000.
170. Mattson, D. L., Kunert, M. P., Kaldunski, M. L., Greene, A. S., Roman, R. J., Jacob, H. J., and Cowley, A. W., Jr. Influence of diet and genetics on hypertension and renal disease in Dahl salt-sensitive rats. *Physiol Genomics*, 16: 194-203, 2004.
171. Gibbs, R. A., Weinstock, G. M., Metzker, M. L., Muzny, D. M., Sodergren, E. J., Scherer, S., Scott, G., Steffen, D., Worley, K. C., Burch, P. E., Okwuonu, G., Hines, S., Lewis, L., DeRamo, C., Delgado, O., Dugan-Rocha, S., Miner, G., Morgan, M., Hawes, A., Gill, R., Celera, Holt, R. A., Adams, M. D., Amanatides, P. G., Baden-Tillson, H., Barnstead, M., Chin, S., Evans, C. A., Ferreira, S., Fosler, C., Glodek, A., Gu, Z., Jennings, D., Kraft, C. L., Nguyen, T., Pfannkoch, C. M., Sitter, C., Sutton, G. G., Venter, J. C., Woodage, T., Smith, D., Lee, H. M., Gustafson, E., Cahill, P., Kana, A., Doucette-Stamm, L., Weinstock, K., Fechtel, K., Weiss, R. B., Dunn, D. M., Green, E. D., Blakesley, R. W., Bouffard, G. G., De Jong, P. J., Osoegawa, K., Zhu, B., Marra, M., Schein, J., Bosdet, I., Fjell, C., Jones, S., Krzywinski, M., Mathewson, C., Siddiqui, A., Wye, N., McPherson, J., Zhao, S., Fraser, C. M., Shetty, J., Shatsman, S., Geer, K., Chen, Y., Abramzon, S., Niernan, W. C., Havlak, P. H., Chen, R., Durbin, K. J., Egan, A., Ren, Y., Song, X. Z., Li, B., Liu, Y., Qin, X., Cawley, S., Worley, K. C., Cooney, A. J., D'Souza, L. M., Martin, K., Wu, J. Q., Gonzalez-Garay, M. L., Jackson, A. R., Kalafus, K. J., McLeod, M. P., Milosavljevic, A., Virk, D., Volkov, A., Wheeler, D. A., Zhang, Z., Bailey, J. A., Eichler, E. E., Tuzun, E., Birney, E., Mongin, E., Ureta-Vidal, A., Woodwark, C., Zdobnov, E., Bork, P., Suyama, M., Torrents, D., Alexandersson, M., Trask, B. J., Young, J. M., Huang, H., Wang, H., Xing, H., Daniels, S., Gietzen, D., Schmidt, J., Stevens, K., Vitt, U., Wingrove,

- J., Camara, F., Mar, A. M., Abril, J. F., Guigo, R., Smit, A., Dubchak, I., Rubin, E. M., Couronne, O., Poliakov, A., Hubner, N., Ganten, D., Goesele, C., Hummel, O., Kreitler, T., Lee, Y. A., Monti, J., Schulz, H., Zimdahl, H., Himmelbauer, H., Lehrach, H., Jacob, H. J., Bromberg, S., Gullings-Handley, J., Jensen-Seaman, M. I., Kwitek, A. E., Lazar, J., Pasko, D., Tonellato, P. J., Twigger, S., Ponting, C. P., Duarte, J. M., Rice, S., Goodstadt, L., Beatson, S. A., Emes, R. D., Winter, E. E., Webber, C., Brandt, P., Nyakatura, G., Adetobi, M., Chiaromonte, F., Elnitski, L., Eswara, P., Hardison, R. C., Hou, M., Kolbe, D., Makova, K., Miller, W., Nekrutenko, A., Riemer, C., Schwartz, S., Taylor, J., Yang, S., Zhang, Y., Lindpaintner, K., Andrews, T. D., Caccamo, M., Clamp, M., Clarke, L., Curwen, V., Durbin, R., Eyras, E., Searle, S. M., Cooper, G. M., Batzoglou, S., Brudno, M., Sidow, A., Stone, E. A., Venter, J. C., Payseur, B. A., Bourque, G., Lopez-Otin, C., Puente, X. S., Chakrabarti, K., Chatterji, S., Dewey, C., Pachter, L., Bray, N., Yap, V. B., Caspi, A., Tesler, G., Pevzner, P. A., Haussler, D., Roskin, K. M., Baertsch, R., Clawson, H., Furey, T. S., Hinrichs, A. S., Karolchik, D., Kent, W. J., Rosenbloom, K. R., Trumbower, H., Weirauch, M., Cooper, D. N., Stenson, P. D., Ma, B., Brent, M., Arumugam, M., Shteynberg, D., Copley, R. R., Taylor, M. S., Riethman, H., Mudunuri, U., Peterson, J., Guyer, M., Felsenfeld, A., Old, S., Mockrin, S., and Collins, F. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*, 428: 493-521, 2004.
172. Dutil, J. and Deng, A. Y. Mapping a blood pressure quantitative trait locus to a 5.7-cM region in Dahl salt-sensitive rats. *Mammalian Genome*, 12: 362-365, 2001.
173. Atmuller, J., Palmer, L. J., Fisher, G., Scherb, H., and Wjst, M. Genomewide scans of complex diseases: true linkage is hard to find. *Am.J.Hum.Genet.*, 69: 936-950, 2001.
174. Hirschhorn, J. N., Lohmueller, K., Byrne, E., and Hirschhorn, K. A comprehensive review of genetic associatio studies. *Genet.Med.*, 4: 45-61, 2002.
175. Schork, N. J., Nath, S. P., Lindpaintner, K., and Jacob, H. J. Extensions to quantitative trait locus mapping in experimental organisms. *Hypertension*, 28: 1104-1111, 1996.
176. Kreutz, R. and Hubner, N. Congenic rat strains are important tools for the genetic dissection of essential hyprtension. *Semin.Nephrol.*, 22: 135-147, 2002.
177. Williams, S. M., Haines, J. L., and Moore, J. H. The use of animals models in the study of complex disease: all else is never equal or why do so many human studies fail to replicate animal findings? *BioEssays*, 26: 170-179, 2004.
178. Templeton, A. R. Epistasis and complex traits. *In* J. B. Wolf, E. D. I. Brodie, and M. J. Wade (eds.), *Epistasis and the evolutionary process*, pp. 41-57. New York, NY: Oxford University Press, 2000.

179. Bianchi, G., Tripodi, G., Casari, G., Salardi, S., Barber, B. R., Garcia, R., Leoni, P., Torielli, L., Cusi, D., Ferrandi, M., and . Two point mutations within the adducin genes are involved in blood pressure variation. *Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A*, 91: 3999-4003, 1994.
180. Julier, C., Delepine, M., Keavney, B., Terwilliger, J., Davis, S., Weeks, D. E., Bui, T., Jeunemaitre, X., Velho, G., Froguel, P., Ratcliffe, P., Corvol, P., Soubrier, F., and Lathrop, G. M. Genetic susceptibility for human familial essential hypertension in a region of homology with blood pressure linkage on rat chromosome 10. *Hum.Mol.Genet.*, 6: 2077-2085, 1997.
181. Casari, G., Barlassina, C., Cusi, D., Zagato, L., Muirhead, R., Righetti, M., Nembri, P., Amar, K., Gatti, M., Macciardi, F., and . Association of the alpha-adducin locus with essential hypertension. *Hypertension*, 25: 320-326, 1995.
182. Handbook of hypertension. Experimental and Genetic Models of Hypertension, vol. 16. New York: Elsevier Science, 1994.
183. James, J. F., Hewett, T. E., and Robbins, J. Cardiac physiology in transgenic mice. *Circ.Res.*, 82: 407-415, 1998.
184. Schlager, G. Selection for blood pressure levels in mice. *Genetics*, 76: 537-549, 1974.
185. Svenson, K. L., Bogue, M. A., and Peters, L. L. Identifying new mouse models of cardiovascular disease: a review of high-throughput screens of mutagenized and inbred strains. *J.Appl.Physiol.*, 94: 1650-1659, 2003.
186. Dominiczak A.F. and Lindpainter K. Genetics of hypertension: a current appraisal. *News Physiol Sci*, 9: 246-251, 1994.
187. Gibbs, R. A., Weinstock, G. M., Metzker, M. L., Muzny, D. M., Sodergren, E. J., Scherer, S., Scott, G., Steffen, D., Worley, K. C., Burch, P. E., Okwuonu, G., Hines, S., Lewis, L., DeRamo, C., Delgado, O., Dugan-Rocha, S., Miner, G., Morgan, M., Hawes, A., Gill, R., Celera, Holt, R. A., Adams, M. D., Amanatides, P. G., Baden-Tillson, H., Barnstead, M., Chin, S., Evans, C. A., Ferreira, S., Fosler, C., Glodek, A., Gu, Z., Jennings, D., Kraft, C. L., Nguyen, T., Pfannkoch, C. M., Sitter, C., Sutton, G. G., Venter, J. C., Woodage, T., Smith, D., Lee, H. M., Gustafson, E., Cahill, P., Kana, A., Doucette-Stamm, L., Weinstock, K., Fechtel, K., Weiss, R. B., Dunn, D. M., Green, E. D., Blakesley, R. W., Bouffard, G. G., De Jong, P. J., Osoegawa, K., Zhu, B., Marra, M., Schein, J., Bosdet, I., Fjell, C., Jones, S., Krzywinski, M., Mathewson, C., Siddiqui, A., Wye, N., McPherson, J., Zhao, S., Fraser, C. M., Shetty, J., Shatsman, S., Geer, K., Chen, Y., Abramzon, S., Nierman, W. C., Havlak, P. H., Chen, R., Durbin, K. J., Egan, A., Ren, Y., Song, X. Z., Li, B., Liu, Y., Qin, X., Cawley, S., Worley, K. C., Cooney, A. J., D'Souza, L. M., Martin, K., Wu, J. Q., Gonzalez-Garay, M. L., Jackson, A. R., Kalafus, K. J., McLeod, M. P., Milosavljevic, A., Virk, D., Volkov, A., Wheeler, D. A., Zhang, Z., Bailey, J. A., Eichler, E. E., Tuzun, E., Birney, E., Mongin, E., Ureta-Vidal, A., Woodwork, C.,

- Zdobnov, E., Bork, P., Suyama, M., Torrents, D., Alexandersson, M., Trask, B. J., Young, J. M., Huang, H., Wang, H., Xing, H., Daniels, S., Gietzen, D., Schmidt, J., Stevens, K., Vitt, U., Wingrove, J., Camara, F., Mar, A. M., Abril, J. F., Guigo, R., Smit, A., Dubchak, I., Rubin, E. M., Couronne, O., Poliakov, A., Hubner, N., Ganten, D., Goesele, C., Hummel, O., Kreitler, T., Lee, Y. A., Monti, J., Schulz, H., Zimdahl, H., Himmelbauer, H., Lehrach, H., Jacob, H. J., Bromberg, S., Gullings-Handley, J., Jensen-Seaman, M. I., Kwitek, A. E., Lazar, J., Pasko, D., Tonellato, P. J., Twigger, S., Ponting, C. P., Duarte, J. M., Rice, S., Goodstadt, L., Beatson, S. A., Emes, R. D., Winter, E. E., Webber, C., Brandt, P., Nyakatura, G., Adetobi, M., Chiaromonte, F., Elnitski, L., Eswara, P., Hardison, R. C., Hou, M., Kolbe, D., Makova, K., Miller, W., Nekrutenko, A., Riemer, C., Schwartz, S., Taylor, J., Yang, S., Zhang, Y., Lindpaintner, K., Andrews, T. D., Caccamo, M., Clamp, M., Clarke, L., Curwen, V., Durbin, R., Eyras, E., Searle, S. M., Cooper, G. M., Batzoglou, S., Brudno, M., Sidow, A., Stone, E. A., Venter, J. C., Payseur, B. A., Bourque, G., Lopez-Otin, C., Puente, X. S., Chakrabarti, K., Chatterji, S., Dewey, C., Pachter, L., Bray, N., Yap, V. B., Caspi, A., Tesler, G., Pevzner, P. A., Haussler, D., Roskin, K. M., Baertsch, R., Clawson, H., Furey, T. S., Hinrichs, A. S., Karolchik, D., Kent, W. J., Rosenbloom, K. R., Trumbower, H., Weirauch, M., Cooper, D. N., Stenson, P. D., Ma, B., Brent, M., Arumugam, M., Shteynberg, D., Copley, R. R., Taylor, M. S., Riethman, H., Mudunuri, U., Peterson, J., Guyer, M., Felsenfeld, A., Old, S., Mockrin, S., and Collins, F. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*, 428: 493-521, 2004.
188. Lovenberg, W. and Horan, M. Genetic rat models for hypertension: guidelines for breeding, care and use. *Hypertension*, 9: 1140-1142, 1987.
189. Palijan, A., Dutil, J., and Deng, A. Y. Quantitative trait loci with opposing blood pressure effects demonstrating epistasis on Dahl rat chromosome 3. *Physiological Genomics*, 15: 1-8, 2003.
190. Ariyaratnam, A., Palijan, A., Dutil, J., Prithiviraj, K., Deng, Y., and Deng, A. Y. Dissecting quantitative trait loci into opposite blood pressure effects on Dahl rat Chromosome 8 by congenic strains. *J.Hypertens*, 22: 1495-1502, 2004.
191. Stoll, M., Kwitek-Black, A. E., Cowley, A. W., Jr., Harris, E. L., Harrap, S. B., Krieger, J. E., Printz, M. P., Provoost, A. P., Sassard, J., and Jacob, H. J. New target regions for human hypertension via comparative genomics. *Genome Res.*, 10: 473-482, 2000.
192. Kusaka, M., Yamada, K., Kuroyanagi, Y., Terauchi, A., Kowa, H., Kurahashi, H., and Hoshinaga, K. Gene expression profile in rat renal isografts from brain dead donors. *Transplant Proc.*, 37: 364-366, 2005.
193. Lipovich, L., Lynch, E. D., Lee, M. K., and King, M. C. A novel sodium bicarbonate cotransporter-like gene in an ancient duplicated region : SLC4A9 at 5q31. *Genome Biol.*, 2: 2001.

194. Yagil, Y. and Yagil, C. Congenics in the pathway from quantitative trait loci detection to gene identification: is that the way to go? *J.Hypertens*, 21: 2009-2011, 2003.
195. Kaneko, Y., Herrera, V. L., Didishvili, T., and Ruiz-Opazo, N. Sexe-specific effects of dual ET-1/ANG II receptor 9 (Dear) variants in Dahl salt-sensitive/resistant hypertension rat model. *Physiol Genomics*, 20: 157-164, 2005.
196. Yagil, C., Sapojnikov, M., Kreutz, R., Katni, G., Lindpaintner, K., Ganten, D., and Yagil, Y. Salt susceptibility maps to chromosomes 1 and 17 with sex specificity in the Sabra rat model of hypertension. *Hypertension*, 31: 119-124, 1998.
197. Moreno, C., Dumas, P., Kaldunski, M. L., Tonellato, P. J., Greene, A. S., Roman, R. J., Cheng, Q., Wang, Z., Jacob, H. J., and Cowley, A. W., Jr. Genomic map of cardiovascular phenotypes of hypertension in female Dahl S rats. *Physiol Genomics*, 15: 243-257, 2003.
198. Mattson, D. L., Kunert, M. P., Kaldunski, M. L., Greene, A. S., Roman, R. J., Jacob, H. J., and Cowley, A. W., Jr. Influence of diet and genetics on hypertension and renal disease in Dahl salt-sensitive rats. *Physiol Genomics*, 16: 194-203, 2004.
199. Hamet, P., Pausova, Z., Adarichev, V., Adaricheva, K., and Tremblay, J. Hypertension: genes and environment. *J.Hypertens*, 16: 397-418, 1998.
200. Dutil, J. and Deng, A. Y. Further chromosomal mapping of a blood pressure QTL in Dahl rats on chromosome 2 using congenic strains. *Physiological Genomics*, 6: 3-9, 2001.
201. Hamet, P., Pausova, Z., Adarichev, V., Adaricheva, K., and Tremblay, J. Hypertension: genes and environment. *J.Hypertens*, 16: 397-418, 1998.
202. Brockway, B. P. and Hassler, C. R. Application of radiotelemetry to cardiovascular measurements in pharmacology and toxicology. *In* E. Salem and S. I. Baskin (eds.), *New technologies and concepts for reducing drug toxicities*, pp. 109-132. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1993.
203. Kato, N., Hyne, G., Bihoreau, M. T., Gauguier, D., Lathrop, G. M., and Rapp, J. P. Complete genome searches for quantitative trait loci controlling blood pressure and related traits in four segregating populations derived from Dahl hypertensive rats. *Mamm.Genome*, 10: 259-265, 1999.
204. Wilson, C., Bellen, H. J., and Gehring, W. J. Position effects on eukaryotic gene expression. *Annu.Rev.Cell Biol.*, 6: 679-714, 1990.
205. Deng, A. Y. Functional genomics of blood pressure determination: dissecting and assembling a polygenic trait by experimental genetics. *Current Hypertension Reviews*, 1: 35-50, 2005.

206. Palijan, A., Lambert, R., Sivo, Z., Dutil, J., and Deng, A. Y. Comprehensive congenic coverage revealing multiple BP QTLs on Dahl rat Chromosome 10. *Hypertension*, 42: 515-522, 2003.
207. Eliopoulos, V., Dutil, J., Deng, Y., Grondin, M., and Deng, A. Y. Severe hypertension caused by alleles from normotensive Lewis for a quantitative trait locus on Chromosome 2. *Physiol Genomics*, *In press*: 2005.
208. Saad, Y., Garret, M. R., and Rapp, J. P. Multiple blood pressure QTL on rat chromosome 1 defined by Dahl rat congenic strains. *Physiological Genomics*, 4: 201-214, 2001.
209. Joe, B., Garrett, M. R., Dene, H., and Rapp, J. P. Substitution mapping of a blood pressure quantitative trait locus to a 2.73 Mb region on rat chromosome 1. *J.Hypertens*, 21: 2077-2084, 2003.
210. Deng, A. Y., Dene, H., and Rapp, J. P. Mapping of a quantitative trait locus for blood pressure on rat chromosome 2. *J.Clin.Invest*, 94: 431-436, 1994.
211. Garrett, M. R. and Rapp, J. P. Multiple blood pressure QTL on rat chromosome 2 defined by congenic Dahl rats. *Mammalian Genome*, 13: 41-44, 2002.
212. Deng, A. Y., Dene, H., and Rapp, J. P. Mapping of a quantitative trait locus for blood pressure on rat chromosome 2. *J.Clin.Invest*, 94: 431-436, 1994.
213. Dutil, J. and Deng, A. Y. Mapping a blood pressure quantitative trait locus to a 5.7-cM region in Dahl salt-sensitive rats. *Mammalian Genome*, 12: 362-365, 2001.
214. Deng, A. Y. and Rapp, J. P. Evaluation of the angiotensin II receptor AT1B gene as a candidate gene for blood pressure. *J.Hypertens*, 12: 1001-1006, 1994.
215. Rapp, J. P., Garret, M. R., and Deng, A. Y. Construction of a double congenic strain to prove an epistatic interaction on blood pressure between rat chromosomes 2 and 10. *J.Clin.Invest.*, 101: 1591-1595, 1998.
216. Cicila, G. T., Choi, C., Dene, H., Lee, S. J., and Rapp, J. P. Two blood pressure/cardiac mass quantitative trait loci on chromosome 3 in Dahl rats. *Mamm.Genome*, 10: 112-116, 1999.
217. Deng, A. Y., Dene, H., Pravenec, M., and Rapp, J. P. Genetic mapping of two new blood pressure quantitative trait loci in the rat by genotyping endothelin system genes. *J.Clin.Invest*, 93: 2701-2709, 1994.
218. Garrett, M. R. and Rapp, J. P. Two closely linked interactive blood pressure QTL on rat chromosome 5 defined using congenic Dahl rats. *Physiological Genomics*, 8: 81-86, 2001.

219. Cicila, G. T., Garrett, M. R., Lee, S. J., Liu, J., Dene, H., and Rapp, J. P. High-resolution mapping of the blood pressure QTL on chromosome 7 using Dahl rat congenic strains. *Genomics*, 72: 51-60, 2001.
220. Garrett, M. R. and Rapp, J. P. Defining the blood pressure QTL on chromosome 7 in Dahl rats by a 177-kb congenic segment containing Cyp11b1. *Mamm.Genome*, 14: 268-273, 2003.
221. Meng, H., Garrett, M. R., Dene, H., and Rapp, J. P. Localization of a blood pressure QTL to a 2.4-cM interval on rat chromosome 9 using congenic strains. *Genomics*, 81: 210-220, 2003.
222. Deng, A. Y. and Rapp, J. P. Locus for the inducible, but not a constitutive, nitric oxide synthase cosegregates with blood pressure in the Dahl salt-sensitive rat. *J.Clin.Invest*, 95: 2170-2177, 1995.
223. Dukhanina, O. I., Dene, H., Deng, A. Y., Choi, C. R., Hoebee, B., and Rapp, J. P. Linkage map and congenic strains to localize blood pressure QTL on rat chromosome 10. *Mamm.Genome*, 8: 229-235, 1997.
224. Garrett, M. R., Zhang, X., Dukhanina, O. I., Deng, A. Y., and Rapp, J. P. Two linked blood pressure QTL on chromosome 10 defined by Dahl-rat congenic strains. *Hypertension*, 38: 779-785, 2001.
225. Sivo, Z., Malo, B., Dutil, J., and Deng, A. Y. Accelerated congenics for mapping two blood pressure quantitative trait loci on Chromosome 10 of Dahl rats. *J.Hypertens*, 20: 1-9, 2002.
226. Deng, A. Y. Is the nitric oxide system involved in genetic hypertension in Dahl rats? *Kidney Int.*, 53: 1501-1511, 1998.
227. Kato, N., Hyne, G., Bihoreau, M. T., Gauguier, D., Lathrop, G. M., and Rapp, J. P. Complete genome searches for quantitative trait loci controlling blood pressure and related traits in four segregating populations derived from Dahl hypertensive rats. *Mamm.Genome*, 10: 259-265, 1999.
228. Zhang, Q. Y., Dene, H., Deng, A. Y., Garrett, M. R., Jacob, H. J., and Rapp, J. P. Interval mapping and congenic strains for a blood pressure QTL on rat chromosome 13. *Mamm.Genome*, 8: 636-641, 1997.
229. Jiang, J., Stec, D. E., Drummond, H., Simon, J. S., Koike, G., Jacob, H. J., and Roman, R. J. Transfer of a salt-resistant renin allele raises blood pressure in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension*, 29: 619-627, 1997.
230. Cowley, A. W., Jr., Roman, R. J., Kaldunski, M. L., Dumas, P., Dickhout, J. G., Greene, A. S., and Jacob, H. J. Brown Norway chromosome 13 confers protection from high salt to consomic Dahl S rat. *Hypertension*, 37: 456-461, 2001.

231. Stoll, M., Cowley, A. W., Jr., Tonellato, P. J., Greene, A. S., Kaldunski, M. L., Roman, R. J., Dumas, P., Schork, N. J., Wang, Z., and Jacob, H. J. A genomic-systems biology map for cardiovascular function. *Science*, 294: 1723-1726, 2001.
232. Deng, A. Y., Dene, H., Pravenec, M., and Rapp, J. P. Genetic mapping of two new blood pressure quantitative trait loci in the rat by genotyping endothelin system genes. *J.Clin.Invest*, 93: 2701-2709, 1994.
233. Deng, A. Y. Linkage analysis for blood pressure with rat chromosome 15 markers. *Folia Biol.(Praha)*, 44: 45-48, 1998.
234. Moujahidine, M., Dutil, J., Hamet, P., and Deng, A. Y. Congenic mapping of a blood pressure QTL on Chromosome 16 of Dahl rats. *Mammalian Genome*, 13: 153-156, 2002.
235. Moujahidine, M., Lambert, R., Dutil, J., Palijan, A., Sivo, Z., Ariyaratnam, A., and Deng, A. Y. Combining congenic coverage with gene profiling in search of candidates for blood pressure QTLs in Dahl rats. *Hypertension Research*, 27: 203-212, 2004.
236. Mattson, D. L., Kunert, M. P., Kaldunski, M. L., Greene, A. S., Roman, R. J., Jacob, H. J., and Cowley, A. W., Jr. Influence of diet and genetics on hypertension and renal disease in Dahl salt-sensitive rats. *Physiol Genomics*, 16: 194-203, 2004.
237. Deng, A. Y., Dene, H., Pravenec, M., and Rapp, J. P. Genetic mapping of two new blood pressure quantitative trait loci in the rat by genotyping endothelin system genes. *J.Clin.Invest*, 93: 2701-2709, 1994.
238. Mattson, D. L., Kunert, M. P., Kaldunski, M. L., Greene, A. S., Roman, R. J., Jacob, H. J., and Cowley, A. W., Jr. Influence of diet and genetics on hypertension and renal disease in Dahl salt-sensitive rats. *Physiol Genomics*, 16: 194-203, 2004.
239. Stoll, M., Cowley, A. W., Jr., Tonellato, P. J., Greene, A. S., Kaldunski, M. L., Roman, R. J., Dumas, P., Schork, N. J., Wang, Z., and Jacob, H. J. A genomic-systems biology map for cardiovascular function. *Science*, 294: 1723-1726, 2001.
240. Lander, E. S. and Schork, N. J. Genetic dissection of complex traits. *Science*, 265: 2037-2048, 1994.

Annexe A

Gènes retrouvés dans la région du QTL1

Gène	Début	Fin	Cyto	définition, homologie
LOC307505	27643434	27795182	18p11	similaire à Alpha-1 catenine (protéine associée à cadhérine) (Alpha E-catenine)
LOC291673	27807525	27983675	18p11	similaire à homologue de la chaperone du réticulum
LOC293831	28213017	28242306	18p11	endoplasmique SIL1 hypothétique
LOC361309	28248943	28264006	18p11	similaire à protéine 2 interagissant avec d'autres et liant le polyadénylate
SVCT1	28265406	28277535	18p11	transporteur d'acide ascorbique couplé au sodium 1
LOC291675	28288389	28289866	18p11	similaire à RIKEN cDNA 2010001M09
LOC291676	28305767	28313888	18p11	similaire à RIKEN cDNA 5133400G04
LOC297677	28319876	28347950	18p11	similaire à RIKEN cDNA 2700075B01
LOC291670	28494548	28513353	18p11	similaire à RIKEN cDNA 4930415K17
LOC291669	28554783	28555277	18p11	similaire à protéine ribosomale 40S S16
LOC307500	28636024	28671884	18p11	similaire à protéine hypothétique DKFZp761B0514
LOC291668	28677005	28726598	18p11	similaire à précurseur de Pro-neureguline-2 (Pro-NRG2)
LOC364839	28773302	28944010	18p11	similaire à précurseur de Pro-neureguline-2 (Pro-NRG2)
LOC307498	28948960	28949925	18p11	similaire à la protéine pur-alpha activateur transcriptionnel (protéine alpha purine-riche liant l'ADN simple brin hypothétique)
LOC291665	29010682	29058089	18p11	hypothétique
LOC361310	29070440	29123104	18p11	similaire à prefoldine 1
Dtr	29170213	29180590	18p11	Récepteur de la toxine diphtheria
Slc4a9	29193167	29209365	18p11	Transporteur de soluté famille 4, co-transporteur de sodium bicarbonate, member 9
Sra1	29333202	29336387	18p11	Récepteur stéroïde, activateur d'ARN 1
Apbb3	29337069	29344192	18p11	Protéine liant le précurseur d'amyloid beta (A4), famille B, memb. 3
Plrr4	29346236	29348496	18p11	PLRR-4 Protéine leucine-riche polymorphique
LOC307495	29375342	29380568	18p11	similaire à biliverdine réductase B (flavine réductase (NADPH))
LOC291662	29397091	29398867	18p11	similaire à Ac2-210
Cd14	29401241	29402836	18p11	CD14 antigène
LOC291661	29462030	29468483	18p11	similaire à protéine hypothétique PRO1580
LOC291660	29468657	29470480	18p11	similaire à NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 2, 8kDa
LOC291659	29470608	29485455	18p11	similaire à lk protéine
LOC307494	29486708	29491087	18p11	similaire à RIKEN cDNA 2410080P20
LOC307492	29491748	29509665	18p11	similaire à histidyl-tRNA synthétase
LOC307491	29513353	29524549	18p11	similaire à histidyl-tRNA synthétase-like
LOC364840	29688206	29699583	18p11	similaire à protocadhérine alpha 2
Pcdha8	29724573	29747581	18p11	protocadhérine alpha 8
Pcdha10	29748249	29750765	18p11	protocadhérine alpha 10
Pcdha13	29755264	29952279	18p11	protocadhérine alpha 13
LOC364841	30037666	30040122	18p11	similaire à protocadhérine beta 1
LOC291656	30131444	30139561	18p11	similaire à protocadhérine beta 3

LOC307489	30277110	30279500	18p11	similaire à protocadhérine beta 13
LOC291647	30288943	30291336	18p11	similaire à protocadhérine beta 14
LOC291646	30312073	30314475	18p11	similaire à protocadhérine beta 15
LOC291642	30315915	30345301	18p11	similaire à protocadhérine beta 20
LOC307487	30349278	30351602	18p11	similaire à protocadhérine beta 21
LOC307486	30354032	30356419	18p11	similaire à protocadhérine beta 22
LOC364842	30557937	30558358	18p11	LOC364842
LOC291640	30563426	30564385	18p11	similaire au mutant transporteur de ornithine 2
LOC307485	30568528	30570160	18p11	similaire à TFIID (sous-unité TAFII55)
LOC361312	30588501	30594293	18p11	LOC361312
Pcdhga4	30595451	30620599	18p11	protocadhérine gamma, sous-famille A, 4
LOC291637	30627672	30630116	18p11	similaire à protocadhérine gamma A5
LOC291635	30650806	30661777	18p11	similaire à protocadhérine gamma A7
LOC364843	30661817	30669240	18p11	similaire à protocadhérine gamma A8
Pcdhga9	30672595	30682613	18p11	protocadhérine gamma, sous-famille A, 9
LOC364844	30682637	30689562	18p11	similaire à protocadhérine gamma A10
Pcdhga11	30691304	30693796	18p11	protocadhérine gamma, sous-famille A, 11
LOC364845	30696296	30698725	18p11	similaire à protocadhérine gamma B8
LOC307484	30710305	30710788	18p11	similaire à 60S ribosomal protéine L21
Pcdhgc3	30741247	30780851	18p11	protocadhérine gamma, sous-famille C, 3
LOC307483	30784367	30882175	18p11	similaire à p140mDia
Hdac3	30883856	30902632	18p11	histone déacétylase 3
LOC361313	30903226	30905933	18p11	similaire à RIKEN cDNA 4631403P03
LOC291630	30905949	30906815	18p11	hypothétique LOC291630
LOC307482	30907253	30936408	18p11	similaire à la protéine FLJ00007
LOC361314	30936487	30943611	18p11	similaire à ARF-GAP, RHO-GAP, protéine 3 contenant des domaines d'homologie à répétition ankyrine et pleckstrin protéine 1 activant Rho et Arf-GTPase
LOC307481	31137601	31159195	18p11	similaire au précurseur de protocadhérine 1 isoforme 2; protocadhérine 42; cadhérine-like protéine 1
LOC307480	31205383	31218358	18p11	similaire à la protéine hypothétique KIAA0141
Pcdh12	31224294	31239182	18p11	protocadhérine 12
LOC291609	31372416	31423172	18p11	similaire à la protéine 5 liant le domaine Nedd4 WW
LOC291610	31562881	31563783	18p11	similaire à sprouty-4
LOC364846	31747659	31794995	18p11	LOC364846
Fgf1	31815645	31836615	18p11	facteur de croissance de fibroblastes 1
LOC307459	31969214	32298338	18p11	similaire à la protéine Oligophrenine-1 like (régulateur de GTPase associé avec kinase d'adhésion focale)
LOC364847	32335407	32366664	18p11	similaire à la protéine Oligophrenine-1 like (régulateur de GTPase associé avec kinase d'adhésion focale)
Nr3c1	32411931	32494411	18p12	sous-famille de récepteur nucléaire 3, groupe C, membre 1
LOC291615	32791785	32793677	18p11	similaire à la protéine liant polyA, isoforme enrichi dans testicules
LOC291616	32798980	32799480	18p11	similaire à protéine hypothétique
LOC364848	33045766	33046780	18p11	LOC364848
LOC361315	33285710	33297573	18p11	similaire à Ac2-256
LOC291618	33328708	33330820	18p11	similaire à KIAA1217

LOC364853	35406084	35407004	18p11	LOC364853
LOC291624	35434623	35491049	18p11	similaire à leucyl-tRNA synthétase
LOC361317	35509207	35568553	18p11	similaire à KIAA1311
LOC364854	35589919	35594876	18p11	LOC364854
LOC364855	35624765	35637065	18p11	similaire au domaine POU, classe 4, facteur de transcription 3 (homéoboîte spécifique au cerveau/protéine 3C à domaine POU) (Brn-3C)
LOC364856	35646402	35652671	18p11	LOC364856
LOC364857	35720883	35722743	18p11	similaire à la protéine ribosomale 40S S2
LOC307474	35752159	35812227	18p11	similaire au régulateur de l'élongation de la transcription 1; facteur de transcription CA150; protéine liant la TATA box (facteur associé à TBP, polymérase à ARN II, S, 150kD); facteur 2S associé à la protéine liant la TATA box
nGPCR-2037	35815744	35817138	18p11	récepteur nGPCR-2037 peut-être couplé à protéine G
Pppr2b2	35901504	36179323	18p11	protéine phosphatase 2 (auparavant 2A), sous-unité régulatrice B (PR 52), bêta isoforme
LOC364858	36541272	36646514	18p11	similaire au gène de la protéine sérine/thréonine kinase
Crmp4	36655935	36715621	18p11	dihydropyrimidinase-like 3
LOC307479	36860998	36935482	18p11	similaire à la protéine hypothétique KIAA0555
LOC266602	37126200	37135101	18p11	inhibiteur de la trypsine sécrétrice du pancréas type II (PSTI-II)
LOC360294	37168704	37183497	18p11	gène hypothétique supporté par NM_012674
LOC361218	37201826	37211486	18p11	similaire à ORF4
LOC290608	37252555	37277214	18p11	hypothétique LOC291608
LOC364859	37382661	37394385	18q11	similaire à envelope
LOC364860	37453674	37454502	18q11	LOC364860
LOC307452	37531449	37533625	18q11	similaire à la protéine liant c-Mpl
LOC361319	37549293	37652359	18q11	similaire à l'inhibiteur de la sérine protéase, type Kazal, 5; lymphoépithelial inhibiteur de type Kazal
LOC291605	38044523	38061077	18q11	similaire à myotilin
LOC291604	38086226	38123741	18q11	similaire à NuDiX hydrolase (ndx-5)
LOC307449	38137344	38270625	18q11	similaire à la protéine mutée dans le cancer colorectal (MCC)
LOC307446	38625324	38638921	18q11	similaire à l'hélicase à ADN/ARN DEIH-box
LOC364861	39136033	39147355	18q11	LOC364861
LOC364862	39154717	39155085	18q11	LOC364862
LOC288900	39247330	39248194	18q11	similaire à la protéine hypothétique MGC10084
LOC364863	39454852	39459015	18q11	LOC364863
LOC364864	39558490	39559585	18q11	LOC364864
Kcnn2	39598503	39742578	18q11	intermédiaire potassium/canal activé par le calcium à faible conductance, sous-famille N, membre 2
LOC364865	40240781	40242327	18q11	similaire à la NADH déhydrogénase (ubiquinone) 1 bêta sous-complexe 3
LOC291599	40336072	40336539	18q11	similaire à la protéine ribosomale S27a
LOC291597	40367132	40393763	18q11	similaire à la protéine à motif tripartite 36
Pggt1b	40447596	40490424	18q11	géranyl-géranyltransférase type I (GGTase-I)
LOC317161	40709570	40737428	18q11	similaire à protéine membranaire associé à un vésicule; associé à VAMP; 33kDa
LOC364866	40739513	40741184	18q11	similaire à la protéine ribosomale S2

LOC302294	41183884	41184924	18q11	similaire à la déshydrogénase glycéraldéhyde-3-phosphate (phosphorylating) (EC 1.2.1.12) - mouse
LOC302296	41198594	41201833	18q11	similaire à la lectine, liant le galactose, soluble 1
LOC364869	41225645	41231941	18q11	similaire à la protéine hypothétique FLJ38968
LOC361323	41264433	41400486	18q11	similaire à RIKEN cDNA 2310003A05
LOC302297	41436833	41437833	18q11	similaire à Arfaptin 2 (Partenaire de RAC1) (protéine POR1)
LOC317168	41466290	41503059	18q11	similaire à la déshydrogénase glycéraldéhyde-3-phosphate
LOC361324	41583741	41639794	18q11	similaire à la sémaphorine 6A1
LOC361325	42091183	42126911	18q11	similaire à RIKEN cDNA 2410116I05
LOC291595	42193983	42196985	18q11	similaire au stimulateur de dissociation de nucléotides Ral guanine (RalGEF) (RalGDS)
LOC364870	42237042	42237721	18q11	LOC364870
LOC364871	44274710	44274985	18q11	similaire à la protéine ribosomale L28
LOC364872	44366103	44373498	18q11	LOC364872