

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

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

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

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

Localisation et caractère monogénique de cinq loci de traits quantitatifs de l'hypertension artérielle sur le chromosome 10 du rat Dahl salt-sensitive

Présenté par

Sophie Charron
[REDACTED]

Programme de biologie moléculaire
Faculté des études supérieures

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
En vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès sciences (M.sc.)

Septembre 2007
©Sophie Charron



Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

Localisation et caractère monogénique de cinq loci de traits quantitatifs de l'hypertension artérielle sur le chromosome 10 du rat Dahl salt-sensitive

Présenté par

Sophie Charron

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Pierrette Gaudreau
Président-rapporteur

Alan Y. Deng
Directeur de Recherche

Guy Rousseau
Membre du jury

Résumé français

L'hypertension essentielle constitue un facteur de risque important de maladies cardiovasculaires. Précédemment, une étude, effectuée par notre équipe a permis de localiser quatre loci pour traits quantitatifs (QTLs) de la pression sanguine sur le chromosome 10 du rat Dahl sensible au sel (S).

Afin de raffiner cette localisation et d'étudier le fonctionnement de ces QTLs, une série de souches et sous-souches congéniques ont été construites. Chacun des quatre QTLs précédemment identifiés ont ainsi été cernés dans des intervalles ne dépassant pas 1862 kb. De plus, un cinquième QTL a pu être localisé dans un intervalle de 420 kb.

L'étude d'interaction démontre que, bien que la pression sanguine soit un trait polygénique, chaque QTL peut agir de manière indépendante, comme le ferait un trait monogénique. De plus, ces différents QTLs interagissent selon des mécanismes d'épistasie et d'additivité.

Mots clés

Hypertension essentielle, pression sanguine, souche congénique, cartographie génétique, épistasie, interaction génique, dominance, homologie.

Résumé anglais
Abstract

Essential hypertension is a major risk factor for cardiovascular diseases. A previous study, made by our team, located four quantitative trait loci (QTLs) for blood pressure on Dahl salt sensitive rat (S) chromosome 10.

To narrow down the previously found QTL regions and study their function, a series of several congenic strains and substrains were created. These QTL regions were thus reduced in intervals not exceeding 1862 kb. Moreover, a fifth QTL could be localized in a region of 420 kb.

Interaction studies showed that, although the blood pressure is a polygenic trait, each QTL can act independently, as would do a monogenic trait. Moreover, these different QTLs interact according to epistatic and additive mechanisms.

Key words

Essential hypertension, blood pressure, congenic strain, genetic mapping, genetic interaction, epistasy, dominance, homology.

Table des matières

Résumé français	ii
Résumé anglais	iii
Liste des figures	vii
Liste des tableaux	ix
Liste des sigles et abréviations	x
Remerciements	xvi
Introduction	1
1. La pression sanguine	2
1.1. La pression sanguine et ses mécanismes de régulation	2
1.1.1. La régulation neuronale	3
1.1.2. La régulation hormonale	4
1.2. Mesure de la pression sanguine	7
1.3. La pression sanguine : un trait quantitatif et polygénique	7
2. L'hypertension	8
2.1. Définition	8
2.2. Épidémiologie et pathologies associées	8
2.3. Le rôle de la membrane plasmique	9
2.3.1. La transmission de messages	10
2.3.2. Le transport de molécules hydrophiles	10
2.3.2.1. Le sodium	10
2.3.2.2. Le calcium	11
3. Les types d'hypertension	13
3.1. L'hypertension secondaire	13
3.2. L'hypertension monogénique	13
3.3. L'hypertension essentielle	14
3.3.1. L'origine génétique de l'hypertension essentielle	15
3.3.2. L'origine environnementale de l'hypertension essentielle	15
3.3.2.1. La sensibilité au sel	16
3.3.2.2. Diabète, obésité et syndrome métabolique	17

3.3.2.3. Le stress	17
3.3.2.4. L'activité physique	18
4. Les modèles animaux	19
4.1. Le rat	19
4.1.1. Le rat Dahl	20
4.1.2. Le rat Lyon	21
4.1.3. Le rat Milan	21
4.1.4. Le rat «spontaneous hypertensive»	22
5. Principes d'indentification de QTL chez le rat	23
5.1. L'analyse de liaison génétique	23
5.2. L'approche en quatre étapes	24
5.2.1. L'analyse de liaison génétique d'une population significative de rat	24
5.2.2. Cartographie physique primaire de QTLs	26
5.2.3. Cartographie physique fine de QTLs	28
5.2.4. Identification du QTL	28
5.3. Effets du fond génétique et des allèles introduits	31
6. Fonctionnement des QTLs de la pression sanguine	32
6.1. Interactions alléliques	32
6.2. Interactions génétiques	33
7. Le chromosome 10 du rat et l'hypertension	34
Projet de recherche	37
Méthodes	39
8. Lignées congéniques et pression artérielle	40
8.1. Création de lignées congéniques pour le chromosome 10 du rat, à partir des souches S et L	40
8.1.1. Modèle animal	40
8.1.2. Génotypage	40
8.1.3. Souches congéniques, sous-souches et doubles congéniques	49
8.2. Mesure de la pression artérielle	50
8.3. Analyses statistiques	52

Résultats	54
9. Pression artérielle des lignées congéniques du chromosome 10	55
9.1. Carte physique des lignées congéniques obtenues pour le chromosome 10	55
9.2. Mesure de la pression artérielle des lignées congéniques	58
9.2.1. Résumé des résultats de pression artérielle	64
9.3. Interactions alléliques	65
9.4. Études d'interactions géniques	68
Discussion	72
10. Localisation de cinq QTLs sur le chromosome 10	73
11. Caractère monogénique des QTLs du chromosome 10	79
12. Interactions et organisation des cinq QTLs du chromosome 10	81
Conclusion et perspective	84

Liste des figures

Figure 1 Représentation schématique du système rénine-angiotensine.....	6
Figure 2 Exemple de séquence microsatellite	26
Figure 3 Schéma du développement d'une souche congénique pour le chromosome 10 du rat	27
Figure 4 Représentation schématique de l'analyse de liaison effectuée par Garrett et coll. sur le chromosome 10 d'une population F ₂ issue d'un croisement entre les souches S et	34
Figure 5 Homologie des QTLs entre le chromosome 10 du rat et le chromosome 17 humain	35
Figure 6 Marqueurs microsatellites amplifiés par PCR sur plusieurs échantillons d'ADN	41
Figure 7 Carte physique des lignées congéniques obtenues pour le chromosome 10	57
Figure 8 Pression artérielle des souches C10S.L4, C10S.L10, C10S.L31 et C10S.L11	59
Figure 9 Pression artérielle des souches C10S.L12, C10S.L32, C10S.L25 et C10S.L16	60
Figure 10 Pression artérielle des souches C10S.L1, C10S.L26, C10S.L15 et C10S.L27	61
Figure 11 Pression artérielle des souches C10S.L28, C10S.L9, C10S.L17 et C10S.L18	62
Figure 12 Pression artérielle des souches C10S.L20, C10S.L30, C10S.L15XC10S.L16 et C10S.L9XC10S.L16	63
Figure 13 Comparaison des pressions artérielles moyennes entre les souches homozygotes et hétérozygotes pour C10QTL1 et C10QTL2	66
Figure 14 Comparaison des pressions artérielles moyennes entre les souches homozygotes et hétérozygotes pour C10QTL3 et C10QTL4	67
Figure 15 Interactions géniques (partie 1)	70
Figure 16 Interactions géniques (partie 2).....	71
Figure 17 Gènes et Locs contenus dans C10QTL4	76

Figure 18 Gènes et Locs contenus dans C10QTL1 et C10QTL5	77
Figure 19 Gènes et Locs contenus dans C10QTL3 et C10QTL2	78
Figure 20 Schéma proposé du mode d'organisation entre les QTLs de la pression sanguine	83

Liste des tableaux

Tableau I	Lignées de rats consanguins développées pour l'étude de l'hypertension	20
Tableau II	Bases de données de marqueurs microsatellites disponibles sur internet	26
Tableau III	Liste des marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage de la souche S	43
Tableau IV	Nouveaux marqueurs microsatellites du chromosome 10	45
Tableau V	Marqueurs microsatellites utilisés pour l'établissement des lignées congéniques	48
Tableau VI	Pressions artérielles moyenne, diastoliques et systoliques des souche S, L et des lignées congéniques construites pour le chromosome 10 du rat	64

Liste des sigles et abréviations

1700012B07Rik : «RIKEN cDNA 1700012B07 gene»

Abca5 : «ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 5»

ABCA8 : «ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 8»

Abca8a_predicted : «ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 8a
(predicted) »

Abca8b : «ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 8b»

Abca9 : «ATP-binding cassette transporter sub-family A member 9»

ACV : accident cérébro-vasculaire

ACh : acétylcholine

ACTH : hormone adrénocorticotropique

ADH : hormone antidiurétique

ADN : acide désoxyribonucléique

Aldoc : aldolase C

AMAC1: «acyl-malonyl condensing enzyme 1»

Ang I : angiotensine I

Ang II : angiotensine II

Agtr1 : récepteur de l'angiotensine de type I

ARN : acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

ATP : adénosine triphosphate

BN : «Brown Norway rat»

Bzrap1: «benzodiazapine receptor associated protein 1»

Ca²⁺ : ion calcium

CA10 : «carbonic anhydrase X»

Cacng4 : «calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 4»

Car10 : «carbonic anhydrase 10

AMPc : adénosine monophosphate cyclique

CHUM : Centre Hospitalier de l'Université de Montréal

Chr. : chromosome

C_i : concentration intracellulaire
CCPA : conseil canadien de protection des animaux
CIPA : comité institutionnel de protection des animaux
Cl⁻ : ion chlorure
cM : centimorgan
CO₂ : dioxyde de carbone
Coll. : collaborateurs
CR : croisement en retour
Cuedc1 : «CUE domain containing 1»
C17orf47 : «chromosome 17 open reading frame 47»
DAG : diacylglycerol
Dynll2 : «dynein light chain LC8-type 2»
ECA : enzyme de conversion de l'angiotensine
Epx_predicted : «eosinophil peroxidase (predicted)»
F₁ : première génération
F₂ : seconde génération
FHH : «fawn-hooded hypertensive rat»
FHL : «fawn-hooded low blood pressure rat»
Fndc8 : «fibronectin type III domain containing 8»
H₂O : eau
Gb : gigabase
GH : genetically hypertensive
GMP : guanosine monophosphate
h : heure
HSF5 : «heat shock transcription factor family member 5»
H⁺ : ion hydrogène
Igfbp4 : «insulin-like growth factor binding protein 4 »
ISIAH : «inherited stress induced arterial hypertensive rat»
jrs : jours
K⁺ : ion potassium
kb : kilobase

kg : kilogramme

Kif2b : «kinesin family member 2B»

L : rat Lewis

Loc287569 : «similar to FLJ34922 protein»

Loc287625 : «similar to Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) »

Loc363694: «hypothetical *Loc363694*»

LOC339209 : «hypothetical *LOC339209*»

Loc435271 : «similar to schlafen 3»

LOC645163: «similar to phosphatidylinositol 4-kinase type II»

LOC645173 : «hypothetical *LOC645173*»

LOC645545: «hCG_1642624 hCG1642624»

Loc688477 : «similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase»

Loc688857 : «hypothetical protein *Loc688857*»

Loc688871 : «hypothetical protein *Loc688871*»

Loc688900 : «similar to schlafen 1»

Loc688910 : «hypothetical protein *Loc688910*»

Loc688925 : «similar to Glutathione S-transferase alpha-4 (Glutathione S-transferase Yk) (GST Yk) (GST 8-8) (GST K) (GST A4-4)»

Loc689764: «hypothetical protein *Loc689764*»

Loc689785 : «hypothetical protein *Loc689785*»

Loc689890: «similar to splicing factor, arginine/serine-rich 1 (ASF/SF2)»

Loc689898 : «hypothetical protein *Loc689898*»

Loc689935 : «similar to ribosomal protein L27a»

LOC727873: «hypothetical protein *LOC727873*»

LOC729283: «hypothetical protein *LOC729283*»

LOC729460 : «hypothetical protein *LOC729460*»

LOC729465 : «similar to CUE domain containing» 1

LOD score : cumul des scores

MAP : protéine mitogène activée

Mb : mégabase

min : minute

mg : milligramme
mm Hg : millimètre de mercure
MNS : rat Milan normotensive
Mpo : «myeloperoxidase»
MRFIT : «Multiple Risk Factor Intervention Trial»
Mtmr4 : «myotubularin related protein 4»
Mrps23 : «mitochondrial ribosomal protein S23»
MSX2P : «msh homeobox 2 pseudogene»
n: taille de l'échantillon
Nle1 : «notchless homolog 1 (Drosophila)»
Na⁺ : ion sodium
NaCl: chlorure de sodium
NAHES : «National Health and Examination Surveys»
NCBI : «National Center for Biotechnology Information»
NCX : échangeur Na⁺/Ca²⁺
NHLBI : «National Heart, Lung, and Blood Institute»
NO: monoxyde d'azote
Nos2 : synthétase d'oxyde nitrique
O₂ : oxygène
OR4D1 : «olfactory receptor, family 4, subfamily D, member 1»
OR4D2 : «olfactory receptor, family 4, subfamily D, member 2»
Olf462 : «olfactory receptor 462»
Olf463 : «olfactory receptor 463»
Olf464 : «olfactory receptor 464»
Olr1521_predicted : «olfactory receptor 1521 (predicted)»
Olr1522_predicted : «olfactory receptor 1522 (predicted)»
Olr1523_predicted : «olfactory receptor 1523 (predicted)»
OMS : Organisation mondiale de la santé
PAD : pression artérielle diastolique
PAM : pression artérielle moyenne
PAS : pression artérielle systolique

pb : paire de base
 PCK : protéine kinase C
 PCR: amplification en chaîne par polymérase (polymerase chain reaction)
 PD : pression différentielle
 PHR : «Prague hypertensive rat»
 PNR : «Prague normotensive rat»
Ppm1e : «protein phosphatase 1E (PP2C domain containing)»
 PS : pression sanguine
 QTL : locus pour trait quantitatif
 R : «Dahl salt resistant rat»
Rad51c : «Rad51 homolog c (S. cerevisiae)»
Rad51l3 : «RAD51-like 3 (S. cerevisiae)»
Rffl : «ring finger and FYVE like domain containing protein»
RGD1304861 : «similar to C330016O16Rik protein»
RGD1310708_predicted : «similar to hypothetical protein DKFZp434H2215
 (predicted)»
RGD1559578_predicted : «RGD1559578 (predicted)»
RGD1563765_predicted : «similar to RAD51L2/RAD51C protein (predicted)»
RGD1564411_predicted : «similar to schlafen 3 (predicted)»
Rnf43 : «ring finger protein 43»
Rnu3b4 : «U3B small nuclear RNA 4»
 S : «Dahl salt sensitive rat»
 SBH : «Doca salt sensitive (Sabra hypertensive) rat»
 SBN : «Doca salt resistant (Sabra normotensive) rat»
 SCT : stéroïdes cardiotoniques
 sec : seconde
Sept4 : «septin 4»
SFRS1 : «splicing factor, arginine/serine-rich 1 (ASF/SF2)»
 SHR : «spontaneous hypertensive rat»
 SHRSP : «spontaneous hypertensive rat-stroke-prone»
Slfn2 : «schlafen 2»

Slfn3 : «schlafen 3»

Slfn4 : «schlafen 4»

Slfn5 : «schlafen 5»

SLFN5 : «SCHLAFEN FAMILY MEMBER 5»

SLFN5_2 : «SCHLAFEN 5»

Slfn8 : «schlafen 8»

Slfn9 : «schlafen 9»

Slfn10 : «schlafen 10»

SLFN12 : «schlafen family member 12»

SLFN11 : «schlafen family member 11»

SLFN13 : «schlafen family member 13»

SNA : système nerveux autonome

SNC : système nerveux central

Supt4h1 : «suppressor of Ty 4 homolog 1 (S. cerevisiae)»

Supt4h2_predicted : «suppressor of Ty 4 homolog 2 (S. cerevisiae) (predicted)»

Tex14 : «testis expressed gene 14»

Unc45b : «unc-45 homolog B (C. elegans)»

Vezf1 : «vascular endothelial zinc finger 1»

Wnk4 : «WNK lysine deficient protein kinase 4»

WKY: rat Wistar-Kyoto

YAC : chromosome artificiel de levure

ZNF161 : «vascular endothelial zinc finger 1»

°C : degré Celsius

χ : moyenne

Δ : différence

Remerciements

J'aimerais d'abord remercier ma famille pour leur soutien inconditionnel ainsi que pour la soif d'apprendre, la curiosité et la détermination qu'ils m'ont transmis.

Merci au personnel du laboratoire : Annie Ménard, Julie Roy, Marie-France Auger. Merci pour votre aide, votre patience, votre écoute, votre soutien. Sans vous, la réalisation de ce projet aurait été bien plus ardue.

Merci aux étudiant (es) du laboratoire et du centre de recherche : Julie, Raphaëlle, Vikki, Chenda, Guy, Stéphane, Évelyne. Vos conseils ont éclairé mon cheminement.

Merci à Suzanne Cossette du laboratoire de Dre Tremblay pour son aide. Ton aide m'a sauvée beaucoup d'heures de mises aux points techniques.

Merci aux Instituts de Recherche en Santé du Canada et à la Société Québécoise d'Hypertension Artérielle pour leur financement.

Finalement, un merci particulier à mon directeur de recherche, Dr Alan Y. Deng. Vous avez su me guider dans ce projet. Votre grande disponibilité, votre attention et vos conseils ont été grandement appréciés. Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir permis de me dépasser.

Merci à tous et à toutes !!!

Introduction

Chapitre 1– La pression sanguine

1.1 La pression sanguine et ses mécanismes de régulation

La pression sanguine est la force hydrostatique exercée par le sang sur les parois vasculaires. Au moment de la contraction du muscle cardiaque (systole), le sang est expulsé hors du cœur, en direction des différents organes du corps, *via* le réseau artériel. Le sang revenant au cœur par le réseau veineux est acheminé aux oreillettes, pour ensuite permettre le remplissage des ventricules. Cette période de remplissage est appelée diastole. Chaque cycle systole/diastole dure environ 0,8 seconde et produit une fréquence cardiaque de 65 à 80 battements par minute au repos. Le débit cardiaque est fonction de la fréquence cardiaque et du débit systolique (volume de sang éjecté à chaque systole). Il est aussi dépendant du volume sanguin total⁽¹⁾.

La pression sanguine est dépendante du débit cardiaque et de la résistance vasculaire systémique. Cette dernière résulte de la friction entre le sang et les parois des vaisseaux sanguins. Elle varie en fonction de la viscosité du sang, de la longueur totale et du diamètre des vaisseaux sanguins. La viscosité du sang dépend du ratio qui existe entre ses parties solides (globules rouges, globules blancs, plaquettes, protéines) et le plasma sanguin. Tous facteurs pouvant augmenter cette viscosité augmentent la résistance et, par conséquent, la pression sanguine. La résistance est directement proportionnelle à la longueur des vaisseaux sanguins et inversement proportionnelle à leurs rayons. Les parois du réseau artériel sont constituées, entre autre, de fibres musculaires lisses. Elles permettent de moduler le diamètre des artérioles pour régler leur résistance et la pression⁽¹⁾.

Plusieurs systèmes interviennent dans le contrôle de la pression sanguine en ajustant la fréquence cardiaque, le débit systolique, la résistance vasculaire systémique et le volume sanguin. Cette régulation est à la fois neuronale et hormonale.

1.1.1 La régulation neuronale:

Le centre cardiovasculaire, situé dans le bulbe rachidien du tronc cérébral, règle la fréquence cardiaque, la contractilité (force de contraction) des ventricules et le diamètre des vaisseaux sanguins, par son influence sur les divisions sympathiques et parasympathiques du système nerveux autonome (SNA). Le centre cardiovasculaire reçoit de l'information des régions supérieures du cerveau – cortex cérébral, système limbique et hypothalamus – et de récepteurs, tels les barorécepteurs et les chimiorécepteurs. Les barorécepteurs réagissent à l'étirement des parois des vaisseaux sanguins et des oreillettes, alors que les chimiorécepteurs sont activés par l'acidité du sang, le niveau de CO₂ et d'O₂⁽¹⁾.

Afin de transmettre les signaux de régulation de la pression sanguine aux cellules cibles, le SNA libère les neurotransmetteurs suivants : adrénaline, noradrénaline et acétylcholine (ACh). Ces derniers activent les récepteurs cholinergiques et adrénergiques. Il existe deux types de récepteurs cholinergiques, soit les récepteurs nicotiques et muscariniques. Les récepteurs nicotiques sont formés de différentes combinaisons des sous-unités α , β , γ et ϵ . Il existe donc de multiples sous-types de ces récepteurs en fonction des différentes combinaisons possibles. Les récepteurs muscariniques, quant à eux, sont divisés en cinq sous-types de M1 à M5. Il existe aussi deux types de récepteurs adrénergiques; les récepteurs α et β . Ils sont, à leur tour, classifiés en sous-types : α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , β_3 ^(1,2).

La stimulation parasympathique, *via* le nerf vague (X), abaisse la fréquence cardiaque. La stimulation sympathique du cœur, *via* les nerfs accélérateurs cardiaques, augmente la fréquence cardiaque. Dans les muscles striés, la stimulation sympathique active les récepteurs β -adrénergiques des muscles lisses des vaisseaux sanguins et entraîne une vasodilatation. De plus, cette division contrôle la vasoconstriction des petites artères et artérioles *via* les nerfs vasomoteurs. Cet effet est dû à l'activation des récepteurs α -adrénergiques de la noradrénaline⁽¹⁾. La stimulation sympathique a aussi une influence régulatrice sur la production de rénine,

le taux de filtration glomérulaire et la réabsorption de sodium au niveau du tubule rénal⁽³⁾.

L'acétylcholine a un effet vasodilatateur et ralentit la fréquence cardiaque⁽¹⁾. En plus d'être produites et libérées par les neurones, l'adrénaline et la noradrénaline sont sécrétées dans le sang par les glandes médullosurrénales. Elles sont alors considérées comme des hormones. L'adrénaline est majoritairement libérée par les médullosurrénales. Elle agit alors comme hormone. Une faible fraction est libérée par le SNC. À l'inverse, la noradrénaline est faiblement libérée dans la circulation par les médullosurrénales et plus fortement relâchée par le SNC. L'adrénaline augmente le rythme cardiaque et le débit sanguin des muscles squelettiques et du cerveau. Elle diminue la résistance périphérique totale. La noradrénaline, par son action sur des récepteurs différents, diminue le rythme cardiaque et augmente la résistance périphérique totales⁽⁴⁾. L'administration, par voie intraveineuse, de noradrénaline cause une élévation de la pression sanguine⁽³⁾.

1.1.2 La régulation hormonale

Plusieurs hormones sont impliquées dans le contrôle de la pression sanguine par leurs effets sur le cœur, le diamètre des vaisseaux sanguins, le débit et le volume sanguin total.

Le système rénine-angiotensine (SRAA) joue un rôle important dans le contrôle de la pression sanguine. Il est constitué d'une cascade d'événements qui permettent une augmentation de la pression sanguine par de multiples voies. La Figure 1 résume le fonctionnement et les effets de ce système. L'angiotensine II (Ang II) est obtenue suite au clivage de l'angiotensine I (Ang I) par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA). Cette enzyme est sécrétée par les cellules endothéliales dans tout l'organisme. L'angiotensine I est, elle-même, obtenue suite au clivage de l'angiotensinogène par la rénine. L'angiotensinogène est produit par le

foie, alors que la rénine est synthétisée par les cellules de l'appareil juxtaglomérulaire du rein^(1,5).

L'action de l'Ang II est médiée par sa liaison aux récepteurs spécifiques AT₁ et AT₂⁽⁶⁾. Ces récepteurs couplés aux protéines G sont exprimés dans plusieurs tissus tels que les reins, le cerveau, et les glandes surrénales. Deux sous-types du récepteur AT₁ - AT_{1a} et AT_{1b} - ont été identifiés chez les rongeurs^(7,8). Ils sont le produit de deux gènes différemment exprimés et régulés : Agtr1a et Agtr1b^(9,10). Il a été démontré que le récepteur AT_{1a} est principalement impliqué dans le tonus vasculaire périphérique et dans la réponse à la pression médiée par le système nerveux central (SNC)^(11,12). Le récepteur AT_{1b}, quant à lui, est requis pour la réponse dipsogénique à l'Ang II⁽¹³⁾.

L'hormone antidiurétique (ADH), est formée au niveau des noyaux supra-optiques et paraventriculaires de l'hypothalamus par clivages d'une pré-prohormone. Elle est ensuite transportée jusqu'à la post-hypophyse qui l'entrepose. Sa libération dépend essentiellement de deux facteurs : l'hyperosmolarité et le volume sanguin. Les effets de la vasopressine résultent de la stimulation de récepteurs de type V₁ et V₂. Le premier est responsable de la vasoconstriction, alors que le deuxième induit l'effet antidiurétique⁽¹⁾.

L'aldostérone est sécrétée par les glandes corticosurrénales suite à la stimulation par l'Ang II. Elle interagit avec les récepteurs mélanocorticoïdes du tubule rénal et cause une plus grande activité des canaux calciques épithéliaux. Cette plus grande activité augmente la rétention d'eau et de Na⁺, ce qui a pour conséquence d'augmenter la pression⁽¹⁾.

Le facteur natriurétique auriculaire est produit par les oreillettes. Sa liaison avec son récepteur provoque une vasodilatation et favorise l'excrétion de sodium et d'eau. Ceci réduit le volume sanguin et diminue la pression artérielle. De plus, il supprime la sécrétion de l'ADH, de l'aldostérone et de la rénine^(1,14).

L'endothéline est produite par l'endothélium des vaisseaux sanguins. Un effet vasoconstricteur résulte de son action sur le récepteur ET_A dans les muscles lisses vasculaires^(15,16). Elle stimule aussi la production de rénine, d'angiotensine II (Ang II), d'aldostérone et d'adrénaline⁽¹⁶⁾.

Le monoxyde d'azote (NO) est libéré par plusieurs types cellulaires dont l'endothélium et les cardiomyocytes. Outre son effet vasodilatateur, il prévient la formation d'artériosclérose et est impliqué dans la contraction du myocarde. Le NO peut être produit par voie enzymatique à l'aide de la NO synthétase (NOS)⁽¹⁷⁾. Chez l'humain trois isoformes de cette enzyme ont été identifiées (*NOS1*, *NOS2* et *NOS3*).

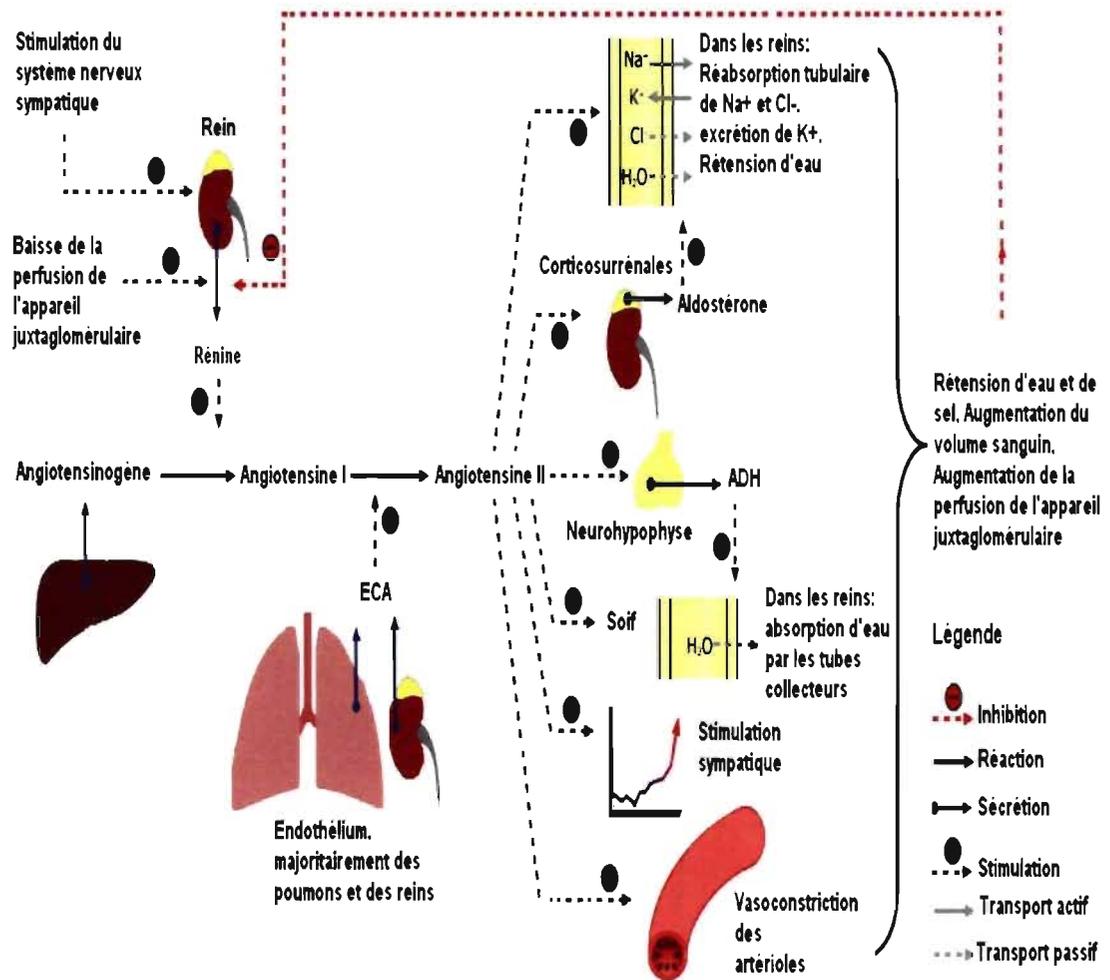


Figure 1 Représentation schématique du système rénine-angiotensine, image adaptée de http://fr.wikipedia.org/wiki/Image:Renin-angiotensin-aldosterone_system.png

1.2 Mesure de la pression sanguine

Chez l'humain, la pression sanguine est normalement mesurée au niveau de l'artère brachiale gauche. Elle est évaluée en deux parties. La pression artérielle systolique (PAS) est la force exercée par le sang sur les parois de l'artère durant la contraction ventriculaire. Elle indique la force de contraction ventriculaire gauche. La pression artérielle diastolique (PAD) est la force exercée par le sang sur les parois de l'artère durant la relaxation ventriculaire. Elle nous renseigne sur la résistance des vaisseaux sanguins⁽¹⁾.

À l'âge adulte, la PAS optimale est d'environ 120 mm Hg, alors que la PAD est d'environ 80 mm Hg^(1,14). Ces résultats sont généralement présentés de la manière suivante : 120/80 mm Hg.

La différence entre les pressions systoliques et diastoliques est appelée pression différentielle (PD). Elle est en moyenne de 40 mm Hg et fournit des renseignements sur l'état des artères. L'artériosclérose cause une élévation importante de la PD. Le rapport normal entre la PAS, la PAD et la PD est d'environ 3: 2: 1.

1.3 La pression sanguine : un trait quantitatif et polygénique

Il est bien connu que la pression sanguine est un trait qui se mesure de manière quantitative et qu'elle est déterminée par l'effet de plusieurs gènes⁽¹⁸⁾. Comme de nombreux autres caractères biologiques, elle présente un spectre de variation qui va d'un minimum à un maximum, en passant par une gamme d'états intermédiaires. Ces derniers sont si peu distincts les uns des autres, que les différences entre eux doivent être mesurées pour être décelées. Ces caractères sont dits quantitatifs et leur phénotype est dû à l'effet cumulatif de plusieurs loci⁽¹⁹⁾. Les loci contrôlant un trait quantitatif sont appelés QTL (loci pour trait quantitatif). À l'opposé, les caractères étudiés par Mendel se manifestaient sous forme d'alternatives nettement distinctes les unes des autres. Ils sont dits qualitatifs ou discontinus.

Chapitre 2 – L’hypertension

2.1 Définition

L’hypertension peut se définir, de manière simplifiée, comme étant une élévation chronique et anormale de la pression sanguine. L’organisation mondiale de la santé (OMS) recommande une pression artérielle inférieure à 140/90 mm Hg chez les sujets adultes non diabétiques ou non atteints d’une maladie rénale chronique. Chez ces derniers, il est recommandé de maintenir une pression artérielle inférieure à 130/80 mm Hg⁽¹⁴⁾.

2.2 Épidémiologie et pathologie associées

Selon le «National Health and Examination Surveys» (NAHES), environ 20% de la population adulte des pays industrialisés est atteinte d’hypertension⁽²⁰⁾. Ce nombre s’élève à plus de 50% chez les personnes âgées de 60 ans et plus^(14,21,22). La prévalence est plus élevée dans la population afro-américaine et augmente plus rapidement avec l’âge chez les femmes que chez l’homme⁽²³⁾. Dans plusieurs sociétés non occidentales et non industrialisées ayant un mode de vie traditionnelle, la prévalence d’hypertension est faible⁽²⁴⁾.

L’hypertension est un facteur de risque puissant d’accidents cérébro-vasculaires (ACV), d’artériosclérose, d’infarctus du myocarde, d’insuffisance cardiaque et de maladies rénales^(22,25,26). En effet, le risque d’ACV et d’infarctus est augmenté, respectivement de 10 et 5 fois, chez les sujets atteints d’hypertension⁽²⁷⁾.

Malgré la sévérité des pathogénies liées à cette maladie, les mécanismes en cause demeurent encore mal connus. Une grande variété de molécules sont disponibles pour traiter les sujets atteints d’hypertension. Ces molécules sont classées en 8 grandes catégories : les diurétiques, les bêta bloquants, les antagonistes du calcium, les inhibiteurs d’ECA, les antagonistes sélectifs de α_1 , les antagoniste de

l'Ang II, les drogues agissant sur le SNC et les autres drogues (inhibiteurs de rénine, antagonistes de l'endothéline, vasodilatateurs directs, *etc.*). Ces drogues peuvent être administrées seules ou en combinaison⁽²⁸⁾. Malgré cela, chez certains patients, aucun traitement ne permet le retour à une pression artérielle complètement normale. De plus, ces drogues ne préviennent pas entièrement le développement des pathologies reliées à l'hypertension tels que l'ACV, la crise cardiaque, la rétinopathie et la néphropathies⁽²⁹⁾.

2.3 Le rôle de la membrane plasmique

L'hypertension est causée par le dérèglement, ou la perte de fonction, d'un ou de plusieurs, des systèmes de contrôle de la pression artérielle. Ceci entraîne une perte de l'homéostasie et un changement de pression.

Au niveau cellulaire, la membrane cytoplasmique est impliquée dans la réception des signaux de contrôle de la pression sanguine. Qu'ils soient d'origine neuronale ou hormonale, ces signaux doivent atteindre l'intérieur des cellules cibles pour transmettre leurs effets. C'est pourquoi la structure et les fonctions de cette membrane jouent un rôle clé dans la pathogenèse de l'hypertension.

La membrane cytoplasmique est une structure dynamique constituée d'une couche bilipidique hydrophobe, de protéines, de glycolipides et de glycoprotéines. Elle permet le maintien de la spécificité et de l'homéostasie cellulaire. De plus, elle permet la communication avec les cellules adjacentes. À l'aide de signaux et de structures spécifiques, elle peut aussi communiquer avec les autres parties de l'organisme. La membrane cytoplasmique présente une perméabilité sélective qui lui permet de contrôler les échanges moléculaires entre le compartiment extracellulaire et l'intérieur de la cellule. Le passage des molécules hydrophiles, au travers de la membrane hydrophobe, est rendu possible grâce à la présence de structures protéiques transmembranaires⁽³⁰⁾. Ces structures sont divisés en deux catégories : les canaux et les transporteurs⁽³¹⁾.

2.3.1 La transmission de messages

Comme discuté précédemment, les neurotransmetteurs et certaines hormones n'entrent pas directement dans les cellules cibles, mais transmettent leurs messages *via* des récepteurs. Ceux-ci sont imbriqués dans la membrane cytoplasmique. La liaison d'un ligand à son récepteur active une suite d'événements intracellulaires divisés en trois grandes étapes : membranaire, cytoplasmique et nucléaire. Au niveau de la membrane, les récepteurs activés stimulent la phosphorylation de protéine G et/ou la production de seconds messagers (inositoltriphosphate, Ca^{2+} , AMPc, GMP, DAG, oxyde nitrique). Ceux-ci activent la voie des MAP kinase au niveau cytoplasmique. Les MAP kinases phosphorylent des protéines cibles afin d'en modifier leur mode d'action. Plusieurs de ces cibles sont des facteurs nucléaires responsables de la transcription des gènes⁽³⁰⁾. Un défaut dans une voie de signalisation peut affecter la régulation de la pression sanguine et mener à l'hypertension.

2.3.2 Le transport de molécules hydrophiles

Les canaux et les transporteurs permettent le transport de molécules hydrophiles comme les ions. Ce transport est contrôlé par des signaux systémiques (hormones, neurotransmetteurs) ou locaux (prostaglandines, oxyde nitrique)⁽³⁰⁾ qui interagissent avec leurs récepteurs spécifiques. Le sodium, le potassium, le chlore, le magnésium et le calcium ont été associés à l'hypertension^(30,32-35). La membrane cytoplasmique joue un rôle important dans le maintien homéostatique de la concentration de ces ions dans les compartiments intra et extracellulaires.

2.3.2.1 Le sodium

Imbriquée dans la membrane cellulaire, la pompe ATPase Na^+/K^+ exporte trois ions Na^+ pour deux ions K^+ importés. Pour ce faire, elle hydrolyse une molécule d'ATP. Ceci permet de conserver une plus grande concentration de Na^+ dans le

compartiment extracellulaire que dans le compartiment intracellulaire. Cette distribution inégale est responsable des flux d'autres ions entre les compartiments⁽³⁰⁾.

De plus, le sodium est l'ion le plus retrouvé dans le liquide extracellulaire. Sa concentration corporelle totale est un déterminant important du volume de fluide extracellulaire. L'excrétion rénale du sodium permet de réguler ce volume afin de prévenir qu'il ne soit pas excessif⁽³⁶⁾.

Les stéroïdes cardiotoniques (SCT), comme la ouabaine endogène, sont connus pour faciliter la natriurèse *via* l'inhibition des pompes ATPase Na^+/K^+ situées à la surface basolatérale des cellules épithéliales tapissant les néphrons^(37,38). Cependant, une production excessive de SCT peut aussi inhiber les pompes ATPase Na^+/K^+ des muscles lisses vasculaires et créer une vasoconstriction⁽³⁹⁾. Les SCT endogènes contribueraient à l'hypertension sensible au sel^(37,39). En effet, chez l'humain, une diète salée chronique — excédant 100mmol de sodium par jour — cause une augmentation en SCT plasmatique⁽⁴⁰⁻⁴²⁾. De plus, des taux élevés de ouabaine endogène sont observés chez 50% des patients atteints d'hypertension essentielle. L'administration d'un antagoniste de la ouabaine permet de normaliser la pression sanguine chez certains sujets hypertendus⁽⁴³⁾.

2.3.2.2 Le calcium

Le calcium intracellulaire est un élément essentiel de la contraction des muscles lisses vasculaires. Il agit aussi comme second messenger. Dans les cellules au repos, la concentration intracellulaire (C_i) de Ca^{2+} est quatre fois plus faible que la concentration extracellulaire. Cette C_i est gardée constante par une variété de mécanismes contrôlés par des canaux et des pompes calciques localisés dans la membrane cytoplasmique et dans les organelles. L'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire provoque la contraction des muscles lisses. La pompe ATPase Ca^{2+} plasmique permet d'exporter le Ca^{2+} hors de la cellule. L'ATPase Ca^{2+} du réticulum sarcoplasmique permet la séquestration de Ca^{2+} dans des organelles intracellulaires.

L'échangeur $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) permet d'exporter le Ca^{2+} , contre son gradient de concentration, en important du Na^+ suivant son gradient de concentration⁽³⁰⁾.

L'augmentation de Na^+ intracellulaire, suite à l'action des SCT par exemple, affecte le gradient de concentration qui permet à NCX d'exporter le Ca^{2+} . L'élévation de la concentration du Ca^{2+} qui en résulte augmente la contraction des muscles lisses vasculaires. Ceci peut conduire à l'hypertension⁽³⁹⁾. En effet, il a été démontré que le NCX de type 1 vasculaire est impliqué dans la régulation de la contractilité des petites artères et dans le développement de l'hypertension Na^+ dépendante⁽⁴⁴⁾.

Chapitre 3 – Les types d'hypertension

Les types d'hypertension sont classés en deux grandes catégories, en fonction de l'origine de cette anomalie: l'hypertension primaire et secondaire. L'hypertension primaire est subdivisée en hypertension monogénique et en hypertension essentielle⁽¹⁴⁾.

3.1 L'hypertension secondaire

L'hypertension secondaire est rare. Elle est causée par l'effet d'une autre maladie sur l'un des systèmes de régulation de la pression sanguine. Par exemple, dans le syndrome de Conn's, la présence d'un adénome sur les glandes corticosurrénales entraîne une surproduction d'aldostérone. Cette hormone stéroïdienne agit sur le tube distal du rein et cause une réabsorption de Na^+ , suivie d'une expansion du liquide extracellulaire et d'une excrétion rénale potassique⁽⁴⁵⁾.

3.2 L'hypertension monogénique

L'hypertension monogénique est responsable d'environ 5% des cas d'hypertension. Elle suit une transmission mendélienne et un seul gène défectueux est responsable des hausses marquées de la pression artérielle. Plusieurs formes monogéniques d'hypertension ont été caractérisées au niveau moléculaire.

L'hyperaldostéronisme familial de type 1 est transmis de manière autosomale dominante. Il est causé par un événement de recombinaison génétique sur le bras long du CHROMOSOME 8 qui entraîne une duplication-fusion entre la partie promotrice du gène β -HYDROXYLASE et la partie codante du gène de L'ALDOSTÉRONNE SYNTHÉTASE. La région promotrice du gène β -HYDROXYLASE étant régulée par l'hormone adrénocorticotropique (ACTH), le gène hybride permet la synthèse surrénalienne excessive d'aldostérone sous le contrôle de l'ACTH, plutôt que l'AngII^(45,46).

Le syndrome de Liddle est d'origine autosomale dominante. Des mutations dans les gènes des sous-unités β et γ du canal sodique épithélial du néphron distal seraient responsables de la maladie. Ces défauts génétiques causent une activation constitutive du canal, ce qui augmente la réabsorption de sodium et élève la pression sanguine^(45,47,48).

Bien que l'hypertension monogénique soit attribuable à la défaillance d'un seul gène, des variations dans la sévérité de la maladie peuvent être observées entre des individus atteints. Ce phénomène est appelé pénétrance variable^(49,50). Plusieurs facteurs peuvent être en cause dans cette variation entre le phénotype et le génotype. Différentes mutations d'un même gène peuvent en être responsables. De même, des mutations dans différents variants alléliques d'un même gène peuvent mener à des phénotypes légèrement différents. L'action de facteurs environnementaux, tel que la diète et le mode de vie, peut également jouer un rôle⁽⁴⁶⁾.

3.3 L'hypertension essentielle

L'hypertension essentielle constitue 95% des cas d'hypertension et son origine est multifactorielle. C'est pourquoi elle est aussi appelée : hypertension multifactorielle ou polygénique. Bien que les causes spécifiques soient encore obscures, il est maintenant accepté que l'hypertension essentielle constitue un désordre résultant de l'interaction entre plusieurs gènes et divers facteurs environnementaux⁽⁵¹⁾.

Dans la pathogenèse de traits complexes, comme l'hypertension essentielle, l'effet des facteurs environnementaux et génétiques ne sont pas additifs⁽⁵²⁾. Chacun des gènes impliqués dans le phénotype possède différents variants alléliques et chacun d'eux répond de manière distincte aux différents facteurs environnementaux. Ces derniers peuvent intervenir de manière ponctuelle ou cumulative au cours de la vie d'un individu. De plus, ils peuvent influencer l'action et/ou le produit d'un ou de plusieurs gènes à la fois. Par exemple, les individus ayant un patrimoine génétique les

prédisposant aux effets du NaCl vont présenter différents degrés d'hypertension, en fonction de la quantité de NaCl qu'ils consomment⁽⁴⁶⁾.

3.3.1 L'origine génétique de l'hypertension essentielle

Plusieurs études ont démontré une plus grande similarité de pression artérielle entre les individus d'une même famille qu'entre des familles différentes⁽⁵³⁻⁵⁵⁾. Toutefois, ces études ne permettent pas de conclure à une origine génétique. En effet, les individus d'une même famille partagent généralement, en plus de leur patrimoine génétique, un mode de vie similaire. Cependant, des études d'adoption ont montré que, lorsque les parents sont hypertendus, l'incidence d'hypertension est deux fois plus grande chez les enfants naturels que chez ceux qui sont adoptés⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾. De plus, l'étude de jumeaux du «National Heart, Lung, and Blood Institute» (NHLBI), montre une plus grande concordance du phénotype chez les jumeaux monozygotes que chez les dizygotes. L'hypertension serait héritable de 44 à 49 %⁽⁵⁹⁾.

3.3.2 L'origine environnementale de l'hypertension essentielle

En plus de l'hérédité, l'âge, l'obésité, la consommation de NaCl et d'alcool, ainsi que l'activité physique sont des facteurs pouvant affecter le développement de l'hypertension essentielle. Les recommandations pour la prévention et le traitement de l'hypertension comportent une modification des habitudes de vie. La consommation modérée d'alcool, la réduction de l'apport sodé, l'augmentation de l'activité physique ainsi qu'une alimentation faible en gras et riche en fruits et en légumes permettent d'abaisser la pression sanguine⁽⁶⁰⁻⁶²⁾. La contribution de l'environnement serait de 30 à 60% dans le développement de l'hypertension essentielle⁽⁶³⁾.

3.3.2.1 La sensibilité au sel

Tel que discuté dans la section 2.3.2.1, l'ion sodium joue un rôle important dans l'hypertension. L'importance de la consommation de NaCl dans la pathogenèse de l'hypertension est reconnue⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾. En effet, la prévalence de l'hypertension est faible dans les sociétés où la diète a une faible teneur en sel⁽⁶⁷⁾. De plus, une telle diète permet de mieux contrôler la pression sanguine chez 20 à 40% des patients hypertendus⁽⁶⁸⁾.

Cependant, il a été démontré qu'une modification de l'apport sodé n'entraîne pas une modification de la pression sanguine chez tous les individus⁽⁶⁹⁾. Qu'ils soient hypertendus ou normotendus, les individus peuvent donc être sensibles, ou résistants, aux effets hypertensifs du NaCl⁽⁷⁰⁾. Il a été démontré que les populations afro-américaines hypertendues sont plus sensibles au NaCl que leurs vis-à-vis caucasiens⁽⁷¹⁻⁷³⁾. Plusieurs études ont aussi rapporté une augmentation de la sensibilité au sel avec l'âge. Ce phénomène est plus prononcé chez les individus hypertendus⁽⁷³⁻⁷⁶⁾. De plus, l'heure de la journée à laquelle le sel est consommé semble avoir un effet sur la réponse hypertensive. En effet, la pression artérielle moyenne augmente significativement lorsque la consommation de NaCl a majoritairement lieu lors du dîner⁽⁷⁷⁾.

Bien que le mécanisme de cette sensibilité ne soit pas encore élucidé, plusieurs facteurs physiologiques ont été rapportés comme y étant reliés. Chez les patients sensibles au NaCl, la consommation de ce dernier est accompagné de changements inappropriés dans le SRAA, le système nerveux sympathique et d'autres facteurs reliés à l'excrétion du NaCl. Par exemple, le taux de rénine plasmatique est diminué, la régulation des récepteurs adrénergiques α_2 est augmentée et celle des récepteurs β_2 est diminuée⁽⁷⁸⁾.

3.3.2.2 Diabète, obésité et syndrome métabolique

La prévalence de l'hypertension est de 42% chez les personnes diabétiques de type I et de 80% chez ceux de type II. Inversement, le risque de devenir diabétique est 2,4 fois plus élevé chez les personnes hypertendues. Dans l'étude MRFIT, la proportion de décès attribuable à l'hypertension était de 23,6% chez les sujets diabétiques contre 14,6% chez les non diabétiques. De plus, l'hypertension et le diabète sont les principales causes d'insuffisance rénale terminale. Chez les diabétiques, les dommages aux reins peuvent être la cause ou la source de l'hypertension⁽¹⁴⁾.

La pression sanguine est reliée de près au poids corporel et la prévalence d'hypertension chez l'adulte augmente avec ce dernier⁽⁷⁹⁻⁸¹⁾. 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 les patients obèses et hypertendus⁽⁸²⁾. Bien que l'obésité puisse contribuer de manière indépendante à l'hypertension et au risque cardiovasculaire, elle est souvent associée à d'autres facteurs de risques tels l'hyperlipidémie et le diabète mellitus⁽⁸³⁾.

L'hypertension, le diabète de type II, l'hypertriglycéridémie, le niveau de cholestérol-HDL sérique et l'obésité ont comme dénominateur commun la résistance à l'insuline. L'association de ces facteurs de risque cardiovasculaire est appelée syndrome métabolique⁽¹⁴⁾. Ces facteurs de risques tendent à avoir un effet synergiques, plutôt qu'additif, sur la morbidité et la mortalité⁽¹⁴⁾.

3.3.2.3 Le stress

Lorsqu'ils sont exposés à divers stress psychologiques et physiques, les individus hypertendus, ayant une histoire familiale d'hypertension, ont une élévation de la pression sanguine plus grande que les individus de descendance normotendue ayant les mêmes niveaux de base de pression sanguine⁽⁸⁴⁾. L'héritabilité de cette

réponse au stress a été estimée chez des jumeaux monozygotiques et dizygotiques. Elle est semblable à l'héritabilité de la pression sanguine basale⁽⁵⁹⁾. L'exposition chronique à un stress élevé causerait, une adaptation cardiovasculaire qui contribuerait à maintenir une pression sanguine élevée⁽⁸⁵⁾.

3.3.2.4 L'activité physique

La pratique d'activité physique régulière produit une baisse de la pression sanguine à long terme⁽⁸⁶⁾. Cet effet n'est observé que chez les individus étant préalablement sédentaires⁽⁸⁶⁾ et serait probablement dû à l'inhibition du système nerveux sympathique, spécialement au niveau rénal⁽⁸⁷⁾.

Chapitre 4 – Les modèles animaux

L'origine multifactorielle de l'hypertension essentielle complique son étude chez l'humain. En effet, il est difficile de distinguer le rôle joué par les multiples facteurs environnementaux de celui joué par les différents défauts génétiques possibles. L'hétérogénéité génétique des populations humaines rend cette tâche encore plus complexe⁽⁸⁸⁾.

L'utilisation de modèles animaux hypertendus constitue une source d'information non négligeable et complémentaire aux études humaines en vue de mieux comprendre les mécanismes menant à l'hypertension essentielle. Ils sont génétiquement homogènes et il est possible de contrôler leur environnement.

4.1 Le rat

Bien que la souris (*Mus musculus*) soit un modèle fréquemment utilisé en recherche, plus de données ont été accumulées concernant la pression sanguine chez le rat (*Rattus norvegicus*)⁽⁸⁹⁾. Sa taille facilite la prise de mesures physiologiques sans nécessiter une demande d'espace de logement exagéré. Le rat a un cycle de reproduction et des portées de taille comparable à la souris⁽⁸⁹⁾. Ces qualités ont fait du rat un modèle de choix pour la recherche dans le domaine de l'hypertension. Son génome (2,75 Gb) est plus petit que celui de l'humain, mais plus grand que celui de la souris (2,6 Gb). Les génomes de ces trois espèces possèdent un nombre similaire de gènes. Le génome du rat a été, en grande partie, séquencé à l'aide de la souche Brown Norway⁽⁹⁰⁾. Cette séquence est disponible sur le site internet du «National Center for Biotechnology Information» (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Le tableau I présente plusieurs modèles de rats consanguins qui ont été développés pour l'étude de l'hypertension.

Tableau I Lignées de rats consanguins développées pour l'étude de l'hypertension.

Souche	Abrév.	Référence
Dahl salt-sensitive	S, DSS, SS/Jr	Dahl et coll., ^(91,92)
Dahl salt-resistant	R, DSR, R/Jr	
Doca salt sensitive (Sabra hypertensive)	SBH	Ben-Ishay et coll., ⁽⁹³⁾
Doca salt resistant (Sabra normotensive)	SBN	
Fawn-hooded hypertensive	FHH	Kuijpers et Gruys, ⁽⁹⁴⁾
Fawn-hooded low blood pressure	FHL	
Genetically hypertensive	GH	Smirk et Hall, ⁽⁹⁵⁾
Inherited stress induced arterial hypertensive	ISIAH	Markel, ⁽⁹⁶⁾
Lyon hypertensive	LH	Dupont et coll., ⁽⁹⁷⁾
Lyon normotensive	LN	
Lyon low blood pressure	LB	
Milan hypertensive	MHS	Bianchi et coll., ⁽⁹⁸⁾
Milan normotensive	MNS	
Prague hypertensive	PHR	Heller et coll., ⁽⁹⁹⁾
Prague normotensive	PNR	
Spontaneous hypertensive	SHR	Okamoto et Aoki, ⁽¹⁰⁰⁾
Spontaneous hypertensive – stroke prone	SHRSP	Okamoto et coll., ⁽¹⁰¹⁾

Tableau adapté de Rapp, J.P.⁽¹⁰²⁾ Abrév. : abréviation.

4.1.1 Le rat Dahl

La souche «Dahl salt-sensitive» (S) et son témoin normotendu, «Dahl salt-resistant» (R), ont été développés en parallèle⁽¹⁰³⁾ à partir de rats Sprague-Dawley^(91,92). Les rats S développent une hypertension fatale lorsqu'ils sont nourris avec une diète riche en sel. Ils deviennent aussi hypertendus lorsqu'ils sont nourris avec une diète à teneur normale en sel. Les rats R, quant à eux, ne développent pas d'hypertension.

En plus d'une pression sanguine élevée, les rats S souffrent de désordres rénaux, d'hypertrophie cardiaque et d'arrêts cardiaques. Ils présentent des anomalies

au niveau des pertes de Ca^{2+} rénal⁽¹⁰⁴⁾, de l'homéostasie du Na^+ et du Ca^{2+} et dans la régulation de l'ATPase Na^+/K^+ ⁽¹⁰⁵⁾. Ils possèdent aussi une prédisposition à développer une insuffisance rénale progressive⁽¹⁰⁶⁾. Des analyses ont démontré un remodelage vasculaire et une prolifération des cellules des muscles vasculaires lisses chez cette souche⁽¹⁰⁷⁾.

La pression sanguine du rat S peut être diminuée à l'aide d'inhibiteurs du SRAA, de diurétiques ou de vasodilatateurs. Chez ces animaux, les antagonistes du calcium et les bêta-blocants sont moins efficaces à cet effet. Les inhibiteurs du SRAA ont aussi un effet sur les dommages aux organes reliés à l'hypertension. Ceci n'est pas le cas pour les diurétiques⁽¹⁰⁸⁾.

4.1.2 Le rat Lyon

Dupont et ses collaborateurs ont créé deux témoins normotendus – le rat «Lyon normotensive» (LN) et le rat «Lyon low blood pressure» (LB) – pour leur souche hypertendue «Lyon hypertensive» (LH). Bien qu'à l'origine, le rat LB ait été créé pour exprimer une pression sanguine plus basse que le rat LN, ces deux souches ont une pression sanguine similaire⁽¹⁰⁹⁾. Lorsque comparé aux rats LB et LN, le rat LH a une faible relâche de rénine et une sensibilité au sel. Malgré le faible taux de rénine, le blocage du SRAA normalise la pression sanguine chez le rat LH⁽¹⁰⁹⁾.

4.1.3 Le rat Milan

Le rat «Milan hypertensive» (MHS) et son témoin normotendu (MNS) ont été développés par Bianchi et ses collaborateurs. Le rat MHS présente des altérations rénales âges dépendantes et des anomalies au niveau de l'activité des corticosurrénales^(110,111), comparativement à son contrôle normotendu MNS. Au stade pré-hypertendu, ces animaux ont un taux de filtration glomérulaire et une excrétion urinaire plus élevés, que leur témoin MNS. Ils ont une activité plasmatique de rénine réduite par rapport à leur témoin, quelque soit le stade de développement de la

maladie. Une plus grande quantité de sodium est réabsorbée à travers le cotransporteur $\text{Na}^+\text{K}^+\text{Cb}$ chez le rat MHS que chez son témoin MNS⁽¹¹¹⁾. De plus, chez les animaux MHS, une augmentation de l'activité des corticosurrénales et une hypertrophie du cortex surrénale cause une augmentation de l'activité sécrétoire et une augmentation de la concentration plasmatique en cortisol⁽¹¹⁰⁾.

4.1.4 Le rat «spontaneous hypertensive»

La souche «spontaneous hypertensive» (SHR) a été obtenue suite au croisement consanguin de rats Wistar. Les animaux ayant les pressions sanguines les plus élevées ont été sélectionnés comme reproducteurs pour développer cette souche. Chez le rat SHR, la pression sanguine commence à s'élever dès l'âge de 5 à 6 semaines. La pression systolique augmente alors graduellement jusqu'à 200 mm Hg⁽¹⁰⁸⁾. Ces animaux sont atteints de disfonctions rénales, d'hypertrophie et d'arrêts cardiaques. Cependant, ils ne sont pas sujets aux ACV. Ils ne développent pas d'artériosclérose et ne font pas de thrombose vasculaire⁽¹⁰⁸⁾.

La pression sanguine du rat SHR peut être diminuée à l'aide d'inhibiteurs du SRAA, d'antagonistes du calcium ou de vasodilatateurs. Cependant, seuls les inhibiteurs du SRAA ont un effet sur les dommages aux organes liés à l'hypertension chez cette souche⁽¹⁰⁸⁾.

La souche «spontaneous hypertensive – stroke prone» (SHRSP) est une sous-souche de la souche SHR. Contrairement à cette dernière, elle est sujette au ACV.

Chapitre 5 – Principes d'indentification de QTL chez le rat

Plusieurs approches peuvent être utilisées pour localiser et identifier les QTLs de la pression sanguine. Chez l'humain, comme chez les modèles animaux, le criblage du génome entier, à l'aide d'une analyse de liaison, permet de localiser ces QTLs. L'effort de recherche peut aussi être concentré sur des gènes candidats. Cette approche repose sur l'idée que, le QTL doit avoir une fonction qui est physiologiquement connue pour être en lien avec le phénotype à l'étude. Pour ces gènes, il est possible de passer directement à l'étape de recherche des différences, dans le niveau d'expression, la séquence régulatrice et/ou la séquence codante entre les individus normotendus et les individus hypertendus. Cependant, des études ont démontré la présence de QTLs dont le rôle physiologique ne semble pas, à première vue, être en lien avec l'hypertension^(112,113).

5.1 L'analyse de liaison génétique

Cette approche est basée sur l'idée que, plus un locus marqueur et le locus causant le phénotype sont près l'un de l'autre, moins il y aura de recombinaison entre eux, et plus ils voyageront souvent ensemble lors de la ségrégation des chromosomes. Lorsque ces deux loci se suivent de façon plus fréquente que le hasard, ils sont considérés comme étant liés. Le cumul des scores (LOD score) est la mesure qui quantifie la probabilité de liaison entre le locus marqueur et le locus responsable du phénotype. Généralement, un LOD score ≥ 3 est considéré comme significatif et indique une probabilité de $p < 0,05$ de liaison entre les deux loci^(114,115). Des logiciels informatiques, tel que MAPMAKER, calculent le LOD score pour chaque locus marqueur⁽¹¹⁶⁾. Il est alors possible d'évaluer quels sont ceux qui sont liés au phénotype. Ce type de logiciel permet ensuite de construire des cartes génétiques qui localisent les QTLs dans un certain intervalle entre les locus marqueurs. Ces intervalles sont généralement d'une taille de 20 à 30 cM⁽¹¹⁴⁾.

Des analyses de liaison ont permis de démontrer l'association significative de certains gènes candidats avec la pression sanguine. Par exemple, la ségrégation du locus *Eca* avec la pression artérielle a été observée dans plusieurs croisements chez le rat⁽⁵²⁾. Chez l'humain, le lien entre *ECA* et l'hypertension a été confirmé⁽¹¹⁷⁾. Une association significative entre le gène de l'angiotensinogène et l'hypertension a aussi été démontrée⁽¹¹⁸⁾.

L'analyse de liaison est fort utile en raison de sa relative rapidité de détection des QTLs, et ce dans tout le génome. Toutefois, cette technique comporte aussi certains désavantages. Premièrement, la relation suggérée entre une région chromosomique et le phénotype est de nature corrélative, et non de type cause à effet. Ainsi, il y a possibilité de faux positifs et de faux négatifs. Ensuite, la résolution des régions QTL ainsi localisées est limitée. Ces régions sont grandes, contiennent de multiples gènes candidats et parfois plus d'un QTL⁽¹¹⁹⁾. Pour toutes ces raisons, la présence de QTLs, suggérée par l'analyse de liaison, doit être confirmée par d'autres méthodes, tel que décrit ci-dessous.

5.2 L'approche en quatre étapes

Cette stratégie comprend : l'analyse de liaison d'une population significative de rat, la cartographie physique des régions QTL précédemment identifiées, la cartographie fine de ces mêmes régions et l'identification du QTL⁽¹⁰³⁾.

5.2.1 L'analyse de liaison génétique d'une population significative de rat

Chez le rat, comme dans les populations humaines, il est possible de localiser des régions QTLs de l'hypertension en effectuant une analyse de liaison. Pour que l'analyse soit valide, elle doit être effectuée sur une population significative. Cette dernière est obtenue en croisant une souche hypertendue et une souche normotendue afin de produire une première génération appelée F_1 . Puisque les parents de la F_1 sont des animaux consanguins et qu'ils ont transmis chacun 50% de leur génome, tous les

individus issus de ce croisement sont génétiquement identiques. Ensuite, les individus de la F_1 sont croisés entre eux de façon aléatoire pour produire une génération F_2 . Chez ces animaux, le génome et le phénotype ont ségrégué, ce qui permet une analyse de liaison génétique⁽¹¹⁵⁾. Une population significative est constituée des individus de cent F_2 ⁽¹⁰³⁾.

La présence des locus marqueurs est déterminée en utilisant les polymorphismes de l'ADN. Il existe plusieurs types de marqueurs du polymorphisme. Les marqueurs microsatellites sont distribués à travers le génome. Ce sont des régions de l'ADN dont les répétitions en tandem possèdent un motif entre une et cinq paires de bases. Le nombre de répétition peut varier d'un individu à l'autre, ou d'une souche à l'autre. C'est ce que l'on appelle le polymorphisme. La technique de PCR (amplification en chaîne par polymérase) permet d'amplifier une région contenant un marqueur microsatellite. Par la suite, il est possible de déterminer la taille du produit de cette amplification en le faisant migrer sur un gel d'agarose ou de polyacrylamide. Plus le microsatellite possèdera de répétitions, plus la taille du produit d'amplification sera grande et moins ce dernier migrera vite dans le gel. Il est alors possible de comparer le polymorphisme de deux individus pour un marqueur locus donné. La Figure 2 montre en exemple une séquence microsatellite.

Plusieurs microsatellites du génome du rat sont répertoriés dans les bases de données disponibles sur internet (Tableau II). Cependant, elles ne contiennent pas tous les microsatellites de ce génome. Il est donc possible de rechercher des répétitions dans le génome séquencé du rat afin de créer de nouveaux marqueurs microsatellites. Puisque la séquence du génome du rat est publiée, il est possible de déterminer la position exacte de ces marqueurs microsatellites dans le génome.

souche réceptrice (hypertendue) sont croisés avec ceux d'une souche donneuse (normotendue) afin de produire une première génération (F₁) hétérozygote, où tous les individus ont hérité de 50% du matériel génétique de chacun des parents. Les individus de la F₁ sont ensuite croisés en retour (CR1) avec la souche parentale réceptrice afin d'augmenter la proportion du génome provenant de cette souche. Après huit croisements en retour, le fond génétique provenant de la souche réceptrice est à 99% homozygote hypertendu. La région d'intérêt provenant de la souche donneuse est hétérozygote⁽¹⁰³⁾; un allèle hypertendu et un allèle normotendu. Lorsque tous les allèles sont ainsi fixés, l'accouplement frère-sœur permet d'obtenir une progéniture dont environ le quart des individus seront homozygotes normotendus pour la région provenant de la souche donneuse et homozygotes hypertendus pour le reste du génome. Un autre quart de la progéniture sera entièrement hypertendu et environ la moitié sera toujours hétérozygote pour la région d'intérêt.

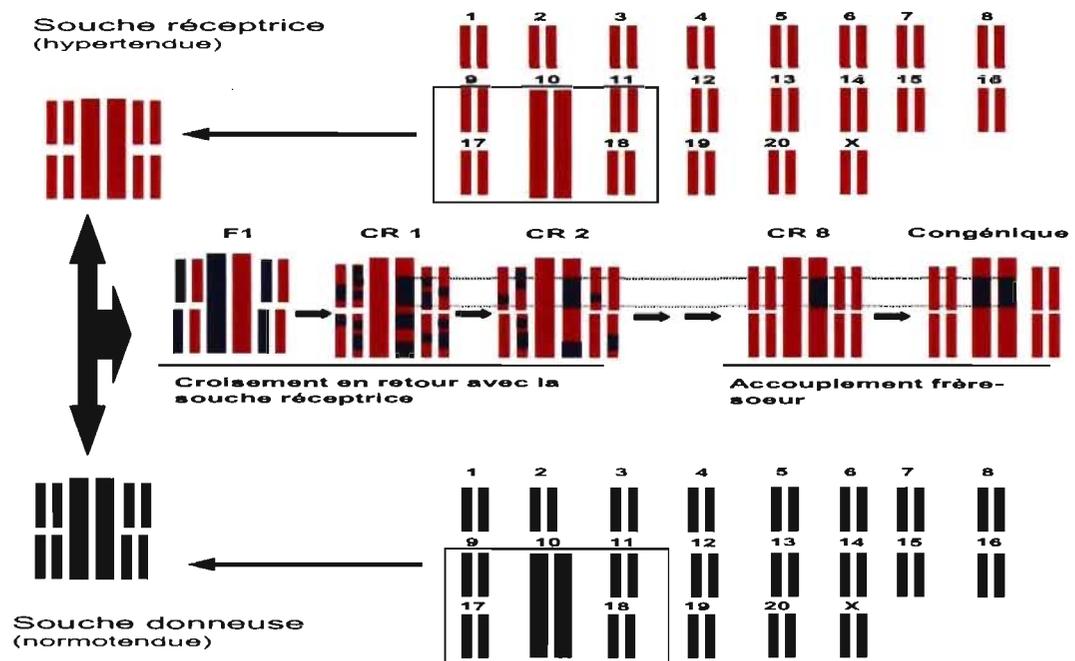


Figure 3 Schéma du développement d'une souche congénique pour le chromosome 10 du rat. Afin de faciliter la visualisation, seul les chromosomes 9, 10, 11, 17 et 18 sont présentés en agrandit. Il est cependant à noter que le même processus a lieu sur les autres chromosomes. CR= croisement en retour

Il faut compter de trois à quatre ans pour produire une lignée congénique en utilisant cette stratégie⁽¹²¹⁾. Grâce au polymorphisme existant entre les souches donneuses et réceptrices, les marqueurs microsatellites peuvent être utilisés pour génotyper les animaux et déterminer les allèles parentaux dont ils ont hérités. À chaque génération, le rat hétérozygote pour les allèles de la région d'intérêt, et possédant un maximum d'homozygotie pour le reste du génome, est choisi pour l'accouplement en retour avec la souche parentale hypertendue. Ceci permet de procéder à l'accouplement frère-sœur dès la cinquième génération, pour ainsi réduire le temps de production des lignées congéniques^(122,123).

5.2.3 Cartographie physique fine de QTL

Une fois les lignées congéniques établies, il est possible de réduire l'intervalle des régions contenant un QTL en construisant des sous-souches congéniques. Pour ce faire, la souche congénique est croisée avec la souche parentale réceptrice. Les événements de recombinaison, qui se produisent durant la méiose, permettent d'obtenir des rats dont la région provenant de la souche donneuse est diminuée sur l'une des deux paires de chromosome. Un accouplement frère-sœur permet d'obtenir des individus homozygotes pour cette région diminuée. La fréquence des événements de recombinaison est dépendante de la grandeur de la région à diminuer. Plus cette région est petite, moins les événements de recombinaison sont fréquents. Statistiquement, une méiose sur 100 donne lieu à un événement de recombinaison dans une région de 1cM⁽¹⁰³⁾. L'utilisation de sous-souches congéniques permet de cerner les régions QTLs dans un intervalle de 100 à 200 kb^(124,125) contenant un minimum de gènes.

5.2.4 Identification du QTL

Une fois la région QTL diminuée au plus petit intervalle possible, il faut trouver la localisation exacte du QTL⁽¹⁰³⁾. Plusieurs options sont disponibles à cette

fin. Grâce aux marqueurs microsatellites et aux annotations de la base de données NCBI, il est possible de déterminer quels sont les gènes compris dans la région QTL.

Chacun de ces gènes peut être séquencé pour la souche hypertendue et son témoin normotendu. Les résultats obtenus peuvent ensuite être comparés. Un changement dans la région codante, peut modifier la composition en acides aminés de la future protéine. Ceci aura pour effet d'altérer sa taille ou sa structure. Une modification dans la région non codante peut aussi avoir des effets sur la régulation de l'expression du gène ou sur son épissage alternatif.

L'expression des gènes peut être étudiée à l'aide de buvardage Northern, de PCR en temps réel et de micropuces d'ADN (microarrays). Le buvardage Northern permet non seulement de quantifier les niveaux ARNm, mais aussi d'évaluer la présence de différents transcrits d'ARNm produit par un éventuel épissage alternatif. Le PCR en temps réel, avec sa plus grande sensibilité, permet de détecter des niveaux d'expression plus faible. Ces deux techniques sont basées sur la détection d'ARNm produit lors de la transcription du gène. Elles impliquent la production d'une sonde qui doit être très spécifique pour l'ARNm du gène étudié. Les micropuces d'ADN permettent d'examiner la différence des niveaux d'expression de plusieurs gènes de façon simultanée.

Cependant, il est important de préciser que le niveau d'expression d'un gène n'est pas toujours représentatif du niveau d'expression de sa protéine. La quantité de protéines produites peut aussi être contrôlée au niveau traductionnel (régulation de la traduction de l'ARNm en protéine) ou post-traductionnel (protéolyse ou séquestration des protéines produites). Le niveau d'expression protéique peut être évalué par immunobuvardage Western. Cette technique permet de détecter et de quantifier les protéines à l'aide d'anticorps qui leurs sont spécifiques.

Lorsqu'une différence entre les deux souches est identifiée dans le mode d'expression ou la séquence d'un gène, il faut confirmer qu'elle est responsable de la

variation de phénotype entre les deux souches. Les animaux «knock-out» et transgéniques peuvent être utilisés à cette fin.

Chez les animaux «knock-out» le gène d'intérêt est altéré de manière à ce qu'il ne soit plus fonctionnel. Actuellement, il n'existe pas de rat «knock-out». La technologie de recombinaison homologe utilisée pour créer ces animaux ne peut pas être appliquée en raison de l'impossibilité d'obtenir des lignées de cellules souches embryonnaires pour cette espèce. Toutefois, il est possible d'utiliser la souris à cette fin⁽¹¹⁹⁾.

L'ARNs interférence peut aussi être utilisée pour réprimer l'expression d'un gène. Il est possible de synthétiser un ARN antisens pour le gène à l'étude et ainsi réprimer l'expression de ce dernier. Cette méthode a été utilisée avec succès pour inhiber le SRAA dans le cerveau de rats transgéniques⁽¹²⁶⁾.

L'utilisation d'animaux transgéniques permet d'évaluer l'effet de la surexpression d'un gène d'intérêt. Par exemple, si un gène est surexprimé dans la souche hypertendue, par rapport à la souche normotendue, l'introduction de copies supplémentaires de ce gène, dans la souche normotendue, fera augmenter la pression sanguine de cette dernière, si ce gène est un QTL de la pression sanguine. De même, si une différence dans la séquence codante entraîne une perte de fonction dans un gène provenant d'une souche hypertendue, l'introduction d'une copie fonctionnelle de ce gène, en provenance de la souche normotendue, devrait causer une baisse de la pression sanguine de la souche hypertendue, si le gène est un QTL de la pression sanguine. Chez le rat, la création de rats transgéniques, par microinjection de larges fragments d'ADN tel que les YACs (300 Mb à 1 kb), n'a pas été rapportée^(127,128). La possibilité d'exprimer le transgène dans un tissu spécifique est un aspect intéressant de cette technique. Cependant l'insertion du transgène dans le génome est aléatoire. Afin de palier à ce problème, plusieurs lignées transgéniques peuvent être construites afin de montrer que les résultats sont indépendants du site d'intégration.

5.3 Effets du fond génétique et des allèles introduits

Le choix de la souche hypertendue détermine le fond génétique, alors que celui de la souche contrastante normotendue détermine les allèles introduits. Ces choix peuvent influencer les résultats de localisation de QTLs de la pression sanguine.

Par exemple, lors d'une analyse de liaison utilisant des populations F_2 dérivées de croisements S X R, S X BN, S X WKY et S X MNS, des QTLs ont été détectés sur plusieurs chromosomes⁽¹²⁹⁾. Certains d'entre eux sont observés seulement dans un des quatre croisements, démontrant ainsi l'effet des allèles introduits sur l'expression du phénotype.

De plus, trois QTLs ont pu être observés sur le chromosome 18 du rat en introduisant des allèles normotendus Lewis dans un génome hypertendu Dahl. L'opération inverse (introduction d'allèles hypertendus Dahl dans un génome normotendu Lewis) n'a cependant pas permis de retrouver ces trois mêmes QTLs. Il a été démontré que cette observation est due à la capacité du génome du rat Lewis à réguler les variations de pression induite par ces QTLs⁽¹³⁰⁾. Le choix du fond génétique a donc un impact important sur les résultats obtenus.

L'utilisation de différentes souches de rat est essentielle pour évaluer l'effet de différents allèles sur différents fonds génétiques. Ceci s'avère d'une importance majeure, puisque l'objectif ultime des études à l'aide de modèles animaux, est la meilleure compréhension de l'hypertension dans la population humaine, où les allèles et les fonds génétiques varient grandement.

Chapitre 6 – Fonctionnement des QTLs de la pression sanguine

Tel que mentionné précédemment, la pression sanguine est un trait quantitatif résultant, entre autre, de l'interaction de plusieurs gènes. Afin de mieux comprendre les mécanismes conduisant à la détermination du phénotype, la découverte, seule, des gènes en cause n'est pas suffisante. L'étude des modes d'interaction de ces derniers est un facteur essentiel à la compréhension des processus menant à l'hypertension. Ces interactions peuvent être alléliques ou intergéniques.

6.1 Interactions alléliques

Les allèles d'un gène sont les différentes formes possibles de ce dernier au niveau d'un même locus. Chaque allèle détermine un phénotype. Ils peuvent interagir de plusieurs façons au niveau fonctionnel. Tous les individus, ont une combinaison de deux allèles de chaque gène. Différentes combinaisons d'allèles produisent différents phénotypes. Un individu est dit homozygote lorsqu'il possède, pour un même gène, deux allèles identiques. Lorsque les deux allèles diffèrent, l'individu est dit hétérozygote. Les interactions alléliques peuvent être de nature dominante, dominante incomplète et la codominante.

Un allèle est dominant lorsque son phénotype est exprimé chez les individus homozygotes, comme chez les hétérozygotes. L'allèle dont le phénotype n'est exprimé que chez les individus homozygotes est dit récessif. Les allèles dont la combinaison, chez les individus hétérozygotes, résulte en un phénotype intermédiaire sont dits sans dominance. Les allèles dont la combinaison permet l'expression de chacun des deux phénotypes sont dits codominants.

Plusieurs analyses de liaison génétique ont montré des mécanismes de dominance et de récessivité pour des allèles de QTLs de la pression sanguine. Par exemple, l'allèle provenant du génome normotendu de la souche Lewis est dominant sur celui du génome hypertendu provenant de la souche S pour un QTL du chromosome 1 chez le rat^(131,132). À l'inverse, l'allèle provenant du génome de la

souche S est dominant sur celui du génome provenant de la souche L pour un QTL du chromosome 17 de cette espèce⁽¹³³⁾.

6.2 Interactions géniques

Il existe plusieurs sortes d'interaction qui peuvent avoir lieu entre des gènes de la même voie biologique ou entre des gènes appartenant à des voies distinctes. Lorsque les gènes interagissant appartiennent à des voies distinctes, une additivité de leurs phénotypes est observée. À l'inverse, lorsqu'ils appartiennent à la même voie biologique, un phénomène d'épistasie est observé. Ce phénomène se produit lorsqu'un gène masque l'expression d'un autre gène. Ce principe peut être utile pour relier des voies biochimiques⁽¹³⁴⁾.

Plusieurs interactions épistatiques ont été démontrées entre les QTLs de la pression sanguine chez le rat. Une relation épistatique a été observée entre les QTLs des chromosomes 2 et 10 dans une analyse de liaison génétique⁽¹³⁵⁾. De même, des interactions épistatiques et des interactions d'additivité ont été observées sur le chromosome 10 du rat S⁽¹¹²⁾.

Chapitre 7 - Le chromosome 10 du rat et l'hypertension

Plusieurs études, effectuées sur différentes souches de rat, ont associé le chromosome 10 du rat à la régulation de la pression sanguine.

En 1991, deux groupes ont effectué une analyse de liaison sur une population F_2 issue du croisement entre les souches SHRSP et WKY^(136,137). Dans cette population, un LOD score de 5,10 a permis de relier le phénotype hypertendu à un locus situé près du gène codant pour l'*Eca* sur le chromosome 10 du rat⁽¹³⁷⁾. Ce gène est aussi fortement lié à l'hypertension dans une population F_2 issue du croisement entre les souches S et MNS⁽¹³⁸⁾. Situés à 30 cM de ce locus, les allèles codant pour l'isoforme 2 du gène oxyde nitrique synthétase (*Nos2*) coségrègent de façon significative avec l'hypertension dans des F_2 issues des croisement S X MNS et S X WKY⁽¹³⁸⁾. Finalement, Garrett et ses collaborateurs ont effectué une analyse de liaison sur une population issue du croisement entre les rats S et L. Un LOD score de 5,5 a alors été obtenu pour le marqueur microsatellite D10Mco6⁽¹³¹⁾. La Figure 4 illustre ce résultat.

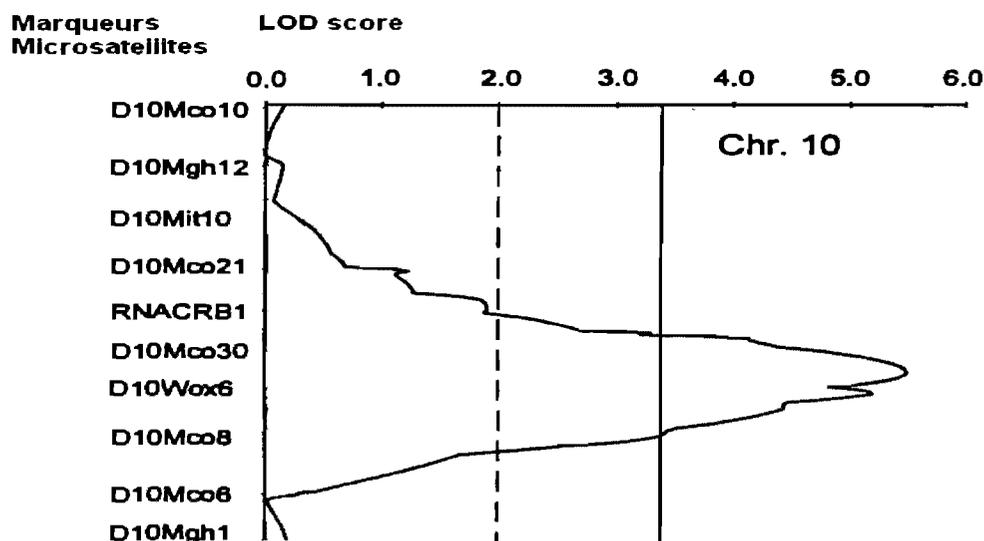


Figure 4 Représentation schématique de l'analyse de liaison effectuée par Garrett et coll. sur le chromosome 10 d'une population F_2 issue d'un croisement entre les souches S et L⁽¹³¹⁾.

Plusieurs lignées congéniques ont aussi été construites afin de cartographier les QTLs identifiés dans les études précédentes. Jusqu'à présent, quatre régions QTLs ont pu être localisées sur le chromosome 10 du rat à l'aide de souches congéniques issues du croisement de rats S et L. La région C10QTL1 contient seize gènes alors, que celle du C10QTL4 en contient dix. Les deux QTLs contenus dans ces régions montrent une dominance de l'allèle L. Les régions C10QTL2 et C10QTL3 sont beaucoup plus grandes et contiennent de nombreux gènes. Les QTLs C10QTL1, C10QTL3 et C10QTL4 sont épistatiques l'un par rapport aux autres, alors que le C10QTL2 leur est additif⁽¹¹²⁾. Tel que représenté à la Figure 5, ces quatre régions QTLs du rat sont homologues à des régions QTLs localisées sur le CHROMOSOME 17 humain.

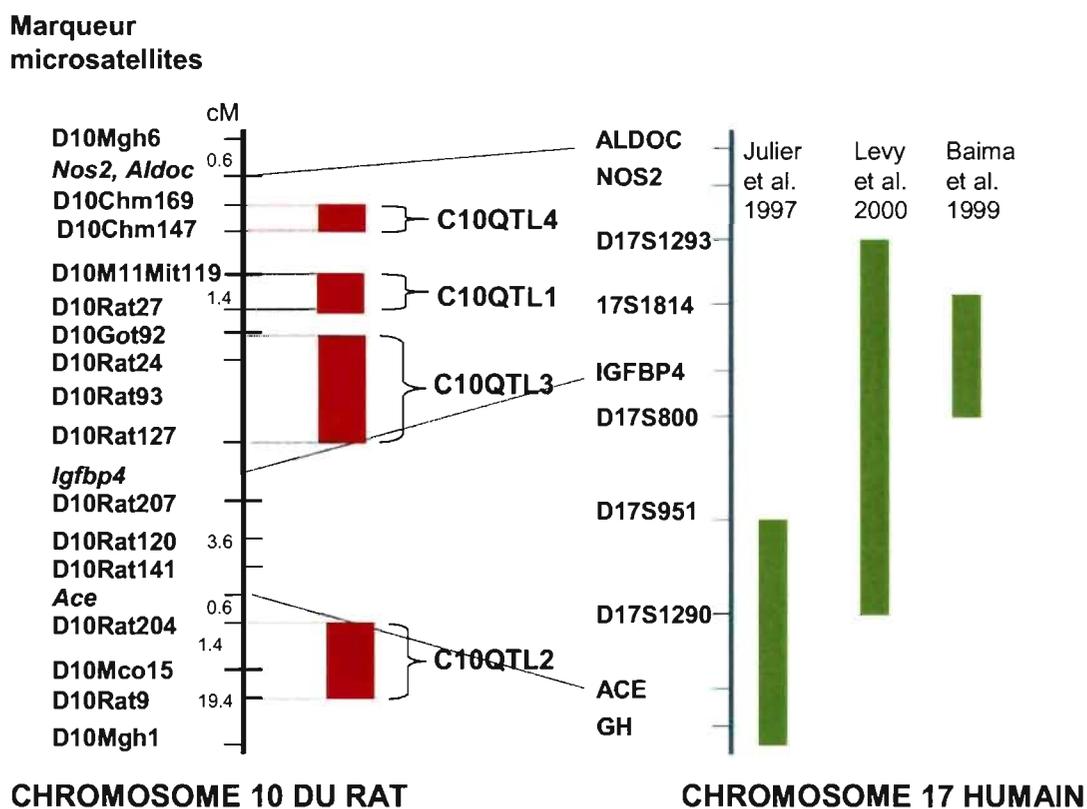


Figure 5 Homologie des régions QTLs entre le chromosome 10 du rat et le CHROMOSOME 17 humain⁽¹³⁹⁻¹⁴¹⁾.

Récemment, Huang et ses coll. ont suggéré que, chez le rat S, des variations génétiques du C10QTL2 contribueraient au gain de fonction du mécanisme central déterminant la réponse à l'augmentation de la concentration en Na^+ dans le liquide céphalo-rachidien. Selon eux, le gène codant pour la sous unité $\gamma 4$ du canal calcique voltage dépendant (*Cacng4*), pourrait être un bon candidat du C10QTL2. En effet, ce gène est inclus dans la région C10QTL2⁽¹⁴²⁾.

Projet de recherche

L'objectif général de ce projet était de mieux comprendre le rôle joué par le chromosome 10 du rat «Dahl salt-sensitive» dans le développement de l'hypertension.

Pour se faire, nous avons poursuivi l'approche pour laquelle nous avons des résultats⁽¹¹²⁾. 1) Nous avons construit de nouvelles sous-souches congéniques en combinant la cartographie génétique, le génotypage et les croisements en retour. Ceci a permis de réduire la taille des régions QTLs de ce chromosome et le nombre de gènes candidats qui s'y trouvent. 2) Nous avons ensuite construit des souches hétérozygotes pour ces régions QTLs afin d'étudier leurs interactions alléliques. 3) Finalement, nous avons construit des souches contenant plus d'un QTL afin d'étudier l'interaction génique des QTLs du chromosome 10.

L'étude du chromosome 10 du rat peut s'avérer utile afin de permettre une meilleure compréhension de l'hypertension chez l'humain. En effet, comme mentionné précédemment, les régions QTLs du chromosome 10 du rat possèdent une forte homologie avec le CHROMOSOME 17 humain. De plus, beaucoup de gènes responsables de maladies humaines possèdent un orthologue chez le rat. Une meilleure compréhension des mécanismes menant à l'hypertension permettra le développement de nouveaux traitements pour les patients atteints de ce désordre physiologique⁽¹⁴³⁾.

Méthodes

Chapitre 8 - Lignées congéniques et pression artérielle

8.1 Création de lignées congéniques pour le chromosome 10 du rat à partir des souches S et L

8.1.1 Modèle animal

La souche de rat SS/Jr, désignée S, venant de J.P. Rapp (Medical College of Ohio, Toledo, Ohio, USA) est maintenue dans nos installations. La souche LEW/CrIBR, désignée L, a été acquise chez Charles River Canada (St-Constant, Québec, Canada). Tous les animaux ont été identifiés à l'aide d'une étiquette métallique implantée au niveau du cou. Les protocoles de manipulation et d'entretien des animaux ont été approuvés par le comité institutionnel de protection des animaux (CIPA) du CHUM, en conformité avec les lignes directrices du conseil canadien de protection des animaux (CCPA).

Les rats S développent une hypertension modérée lorsqu'ils sont nourris avec une diète 0,2 % NaCl. Toutefois, ce désordre est exacerbé lorsque la diète est riche en sel^(91,108,144). Une diète contenant 8% de NaCl induit une hypertension sévère (>220 mm Hg systolique) et cause la mort de ces animaux avant l'âge de huit semaines. Le rat L est utilisé comme témoin normotendu. Il est fortement résistant aux effets hypertensifs du sel. Il y est même plus résistant que le rat «Dahl salt-resistant» (R)^(131,145). Un autre avantage à utiliser le rat L comme témoin normotendu, plutôt que le rat R, est le taux de polymorphisme entre les souches. Ce taux est de 29% entre les souche S et R, alors qu'il est de 50% entre les souches S et L⁽¹⁰³⁾.

8.1.2 Génotypage

La trousse Quiagen Genome Kit[®] (Mississauga, Ontario, Canada) est utilisé pour extraire l'ADN de chaque rat, à partir d'une biopsie du bout de la queue. Chaque

échantillon d'ADN a ensuite été amplifié par PCR avec les amorces pour chacun des marqueurs microsatellites à tester. Les cycles PCR utilisés sont : 95°C pour 5 min, puis 30 cycles de 1) 94°C pour 40 sec, 2) 50, 55 ou 60°C pour 40 sec, 3) 72°C pour 1,5 min, suivit de 72°C pour 5 min. Des ADNs témoins provenant des rats S et L sont aussi préparés de cette façon pour chacun des marqueurs à tester. Les produits d'amplification ont ensuite été séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose 4%. Le temps de migration varie d'un marqueur à l'autre en fonction de sa taille et du degré de polymorphisme entre les deux souches. Le gel est coloré au bromure d'éthidium. Ceci permet la visualisation des bandes d'ADN à l'aide d'une lampe à ultraviolets. La Figure 6 montre la migration d'une réaction PCR effectuée pour le marqueur D10Mgh6. Chacun des puits 1 à 22 représente un individu testé pour ce marqueur, tandis que les puits 23 et 24 représentent les témoins S et L respectivement. Les rats 1,2 et 9 à 12 sont donc homozygotes LL, alors que le rats 4 à 6, 8 et 13 à 22 sont homozygotes SS pour ce marqueurs. Les rats 3 et 7 sont hétérozygotes SL pour ce marqueurs. C'est-à-dire qu'ils possèdent un allèle provenant du génome S et un allèle provenant du génome L.

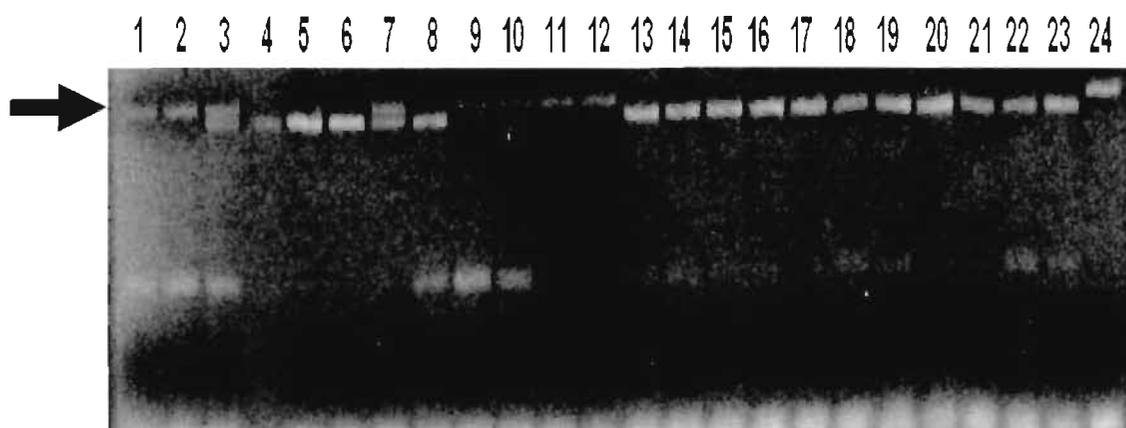


Figure 6 Marqueur microsatellite D10Mgh6 amplifié par PCR sur plusieurs échantillons d'ADN (1 à 22). Les puits 23 et 24 représentent les témoins S et L respectivement.

La souche S est génotypée à l'aide de 87 marqueurs microsatellites, répartis à environ tous les 18 cM dans tout le génome, afin de s'assurer qu'elle demeure identique à la souche d'origine. L'ADN de la souche S originelle est utilisé comme témoin. La liste de ces marqueurs et de leurs conditions PCR est présentée au tableau III. Ils sont disponibles sur internet. Les marqueurs sont désignés par la lettre D, suivi du numéro du chromosome, des trois premières lettres du consensus qui les a créés, puis d'un numéro pour les identifier.

Tableau III Liste des marqueurs microsatellites utilisés pour le génotypage de la souche S

Chr.	Marqueur	T-PCR (°C)	Polym.	Chr.	Marqueur	T-PCR (°C)	Polym.
1	SA	55	S < L	8	D8Rat55	50-55	S < L
1	D1Arb33	55	L < S	8	D8Rat134	55	S < L
1	D1Mco27	55	S > L	8	D8Mgh11	50-55	S < L
1	D1Rat19	55	L < S	9	D9Uia9*	55	S > L
1	D1Rat304	55	S < L	9	D9Rat64	50	S < L
1	D1Uia12	50	S < L	9	D9Wox23	55	S < L
1	D1Wox25	55	S < L	10	D10Mco30	60	S > L
2	D2Got122	60	S > L	10	D10Mco10	50	S > L
2	D2Rat166	45	S > L	10	D10Mco17	50	S > L
2	D2Rat183	55	S > L	10	D10Mgh6	50	S < L
2	D2Rat199	50	S > L	10	D10Wox6	45-50	S < L
2	D2Rat302*	55	S < L	10	D10M11Mit58	50	S > L
2	D2Uia5	50	S > L	10	D10Rat11	50	S < L
2	Gca	55	S < L	10	D11Rat50	55	S < L
2	Nep	50	S > L	10	D10Rat93	50	S > L
2	Camk	50	S < L	11	D11Mit1	55	S < L
2	Cpb	50	S > L	11	D11Uia1*	55	S < L
3	D3 Mgh3	55	S < L	12	D12Mit4	50	S > L
3	D3Rat107*	55	S < L	12	D12Rat32	50-55	S < L
3	D3Rat17*	55	S > L	12	D12Mit6	55	S < L
3	D3Rat24	55	S < L	13	D13Mgh4	50-55	S > L
3	D3Rat52	55	S < L	13	D13Uia3	50-55	S > L
3	D3Rat61	60	S < L	13	D13Uia8	50	S < L
3	D3Rat66	55	S > L	14	D14Uia1	45	S > L
3	D3Wox1	50	S > L	14	D14Uia2	50-55	S > L
3	D3Wox3	50-55	S > L	14	D14Wox10	50	S > L
4	D4Mgh1	50	S < L	15	D15Uia8	50-55	S < L
4	D4Mgh16	55	S < L	15	D15Mgh2	50	S < L
4	D4Mit17	60	S > L	15	D15Rat126	50-55	S > L
4	D4Uia1	50	S > L	16	D16Rat14	55	S > L
4	D4Uia4	50	S < L	16	D16Rat67	45-50	S > L
5	D5Mco2	50	S > L	16	D16Uia2	50-55	S > L
5	D5Mit5	50	S < L	16	D16Mit2	55	S < L
5	D5Rat130	50	S < L	17	D17Mit5	50	S > L
5	D5Rat95	55	S > L	17	D17Wox7	50	S > L
5	D5Uia2	50	S > L	17	D17Mgh5	55	S < L
5	D5Uia8	50-55	S < L	17	ETI (Edn1)	55	S > L
5	ELA2	55	S < L	18	D18Uia6*	45-50-55	S > L
6	D6Mgh3	50	S < L	18	D18Wox7	50-55	S < L
6	D6Mit1	50	S < L	18	D18Mco6	50	S < L
6	D6Rat105	50	S < L	18	D18Mit8	55	S < L
7	D7Mgh1	50-55	S > L	19	D19Rat25	55	S < L
7	D7Rat110	45-50	S > L	19	D19Rat57	50-55	S < L
7	D7Rat115	50-55	S > L	19	D19Rat82	50-55	S < L
7	D7Rat128	45-50	S < L	20	D20Wox1	55	S < L
7	D7Rat152	50	S > L	20	D20Wox3	50-55	S < L
7	D7Rat18	45-50	S > L	20	D20Mgh1	55	S < L
7	D7Rat44	55	S > L	X	DXUia2	55	S > L
8	D8Rat43	55	S > L	X	DXMco1	50	S > L
8	D8Uia2	50	S < L	X	DXRat93	50-55	S < L

Les marqueurs suivit d'une étoile (*) signifie que la réaction PCR doit être effectuée avec du diméthylsulfoxyde (DMSO). Chr. = chromosome, T-PCR = température d'hybridation, Polym. = polymorphisme, S = «Dahl salt-sensitive», L = Lewis.

En plus de ces 87 marqueurs, d'autres sont distribués tout le long du chromosome 10. Ils sont utilisés pour génotyper les lignées congéniques en construction. Ils permettent un génotypage précis des régions d'intérêt à chacune des générations. Lorsqu'aucun marqueur polymorphique n'est disponible dans une région d'intérêt, il est possible d'en concevoir. Pour le chromosome 10, ils sont nommés D10ChmXX (Centre hospitalier de l'Université de Montréal). Le tableau IV présente les marqueurs Chm conçus depuis l'article Charron et coll., 2005⁽¹¹²⁾ et le tableau V présente les autres marqueurs utilisés pour la construction des lignées congéniques. Pour chacun de ces marqueurs, la position dans le contig, la taille, la température d'hybridation du PCR, le polymorphisme et la séquence des amorces sont indiqués.

Le logiciel Primer 3 (<http://frodo.wi.mit.edu/>) est utilisé pour concevoir les nouvelles amorces qui servent à amplifier les marqueurs microsatellites. Ce logiciel détermine les meilleurs oligonucléotides à utiliser pour amplifier un fragment d'ADN d'intérêt. La taille d'un marqueur doit être le plus petit possible afin de pouvoir distinguer facilement une différence de seulement quelques paires de bases entre les deux souches.

Tableau IV Nouveaux marqueurs microsatellites du chromosome 10

Marqueur	Taille (pb)	Contig (version 2)	Position dans le contig (pb)	T-PCR (°C)	Gel	Polym.	Amorce F (5' > 3') Amorce R (5' > 3')
D10Chm230	274	NW_047340	1 985 461	55	A	S=L	GATTGGGCTGTGGATGTTTT TTGGGGATTTAGCTCAGTGG
D10Chm231	229	NW_047340	2 200 981	55	A	S=L	CAAGATCAGCCGATCCATGT TGCTCATGGGTTCAAGTCAG
D10Chm232	275	NW_047341	184 021	55	A	S=L	CAGTGGCAGGGTCCATAAGA GAGACAGGAGGGAGGGTTTC
D10Chm233	290	NW_047341	1 171 501	55	A	S=L	TTCATATCTATCATCCATCCCTATG AAAGCCAGCTTCGTCAACAT
D10Chm234	278	NW_047342	125 581	Aucun produit			CTCCCTCCTCCCTCTGTCT AATAGGGCCAGGAAAGAAA
D10Chm235	254	NW_047342	551 161	55	A	S=L	AGTCAGGTTGGCCTCGACTA ATGTGATTGCCTTGTGACCA
D10Chm236	250	NW_047340	2 107 321	55	A	S=L	TAATCCCAGCACTTGAAGG TCCCTCCACAAGTCCAAATC
D10Chm237	208	NW_047340	2 671 441	Produit non spécifique			TGACCGAGGCAACTCTTACA AGGTGTGCCTTGGTTGGAG
D10Chm238	250	NW_047341	668 821	Produit non spécifique			CTCCCCACCAAGGGTTAGTT ACATCTGGGAAGGGTGTGAC
D10Chm239	216	NW_047342	32 401	55	A	S=L	GGAGCTTCCAATTTTGGTG TACTGGCATGTGTGGACCT
D10Chm240	249	NW_047343	219 361	55	A	S=L	CTCTGCCTTTTGGTGCTAGG CGGGAGGATTGTCAGTGAGT
D10Chm241	238	NW_047343	1 694 461	Aucun produit			ATGGCCTTGAACATCATGTCA TCAAGGTGTGTGGTTCCTGA
D10Chm242	250	NW_047336	16 698 781	60	A	S<L	ATGTCCCCATTACCCATTTG TTCCACAAGTGGGCTCCTT
D10Chm243	249	NW_047336	17 080 681	60	A	S<L	CAATGCCTCGTCTTCAGCTT CCAAGAGCACAAAATACGACA
D10Chm244	178	NW_047336	12 279 601	55	A	S<L	TCAAACCTCCCCACCATAC CATGCCATCTACAGCTCAA
D10Chm245	247	NW_047336	12 409 321	55	A	S>L	CCAATCACAAGCACACGAAG GTGGCTGTCCTGGAAGTGTG
D10Chm246	212	NW_047336	12 261 661	55-60	A	S>L	TGTCTGTCTTCTCTCTCTCTG GGGGAGTGCCAATGAGACTA
D10Chm247	165	NW_047343	15 34 501	60	A	S>L	AAGCATGGGCGAAAGCAG CCCCCTGTCTCTCTCTCTC
D10Chm248	231	NW_047343	1 412 941	60	A	S=L	AGCAGACAGGGCAGTAGAGG TCGGTCCCTGTCTCTGTCTC
D10Chm249	243	NW_047343	1 215 654	55	A	S=L	AGTGGGGGTGTAGACTGGTG GGAAGGTAAAGGGAGGGAGA

Marqueur	Taille (pb)	Contig (version 2)	Position dans le contig (pb)	T-PCR (°C)	Gel	Polym.	Amorce F (5' > 3') Amorce R (5' > 3')
D10Chm250	218	NW_047343	1 749 916	55-60	A	S>L	CGGATGTACCTCCCCAATAA AAAGGAGGAGGAGTGGATGG
D10Chm251	201	NW_047336	12 174 438	55-60	A	S<L	GGTATGGGGGATTGAGACAG TGGCTCTTTCCTCCCTACCT
D10Chm252	201	NW_047336	12 208 501	55-60	A	S<L	CATCTCTCCAGCCCTTGTTT GGTGACAAAGCCCTTGTTGA
D10Chm253	223	NW_047343	972 513	60	A	S=L	TGCCTCTTTGTCTCCCTCTG CTCTGCATTCTGGTGAGTCC
D10Chm254	269	NW_047343	1 091 967	55-60	A	S=L	AAACCCTGCTACCCTACTAGCC CCGCTCTGAGTTCACCTTCC
D10Chm255	246	NW_047336	12 212 414	55	A	S<L	GCACGGAAGGTTCTTAGTTC CCATGAGATCCAGCTGTAAGG
D10Chm256	192	NW_047336	12 221 967	55-60	A	S=L	ACACACAGGAGAACCCCTCA TGGGTAGGTCTCAGATGTTGG
D10Chm257	278	NW_047336	12 365 993	55	A	S<L	GCCTCAGGGCTGACAGTTTA GCCAGGAGTTAGTGAGTTCCT
D10Chm258	245	NW_047336	16 212 278	55	A	S<L	GAAGAGCCCAGAGAATGTGC GTGTAGCCCAGGCTGTATCC
D10Chm259	227	NW_047336	16 290 986	55	A	S<L	TAGTCCCAAACGGAGTGGAG GTGGGAAGTGGGAAGTAAA
D10Chm260	250	NW_047343	875 341	55-60	A	S=L	GATGCCTGGGAGGTCAACTA CTGCCCTCCATTTCTGGAT
D10Chm261	224	NW_047343	881 881	55-60	A	S>L	GGGGACTTGACACCCTCTTC GCTTCATAGCACCCACATCA
D10Chm262	237	NW_047341	374 521	55-60	A	S=L	ACTTAAACCCTGGCCTCTGC CCTAGGTTCAATTCCCAGCA
D10Chm263	218	NW_047341	37 260	55-60	A	S=L	CCTGGGCCACATAGTGTGTT GGACCCTGAATGGTGAACAG
D10Chm264	206	NW_047341	617 761	55-60	A	S=L	TGACCTCAACACACCACACA CTTGGGAGAGCTAGGCACAC
D10Chm265	154	NW_047341	613 081	Aucun produit			GCTCACTCACAGAGGCCAGT ATGCATGCACACACACACAC
D10Chm266	220	NW_047343	1 061 401	55-60	A	S=L	CACACACACACACACACCACT AAAGACATAGCACCCGCAAG
D10Chm267	222	NW_047343	1 084 441	55-60	A	S=L	CTCCAATTCAGGGTTCTGA GAGGGACAAGGGGAAGGTAA
D10Chm268	215	NW_047336	12 256 321	55	A	S<L	AGGATGGGCAGGAGAAAAGT TTCTCTTGGCTGCTCCTCTC
D10Chm269	226	NW_047336	12 221 461	Aucun produit			ACCAAGAGGATGCAAACACC CCTATCTGTTCCTGGGCTTT
D10Chm270	186	NW_047336	12 233 221	55	A	S>L	AGGACTTTCTGTCTGGTACTGC TTTCCTCCAGGGACACAGTC

Marqueur	Taille (pb)	Contig (version 2)	Position dans le contig (pb)	T-PCR (°C)	Gel	Polym.	Amorce F (5' > 3') Amorce R (5' > 3')
D10Chm271	160	NW_047336	12 255 841	55-60	A	S=L	GTGCAGGGAGCGTTTGAC TGTCTTGAAGGAGAGGCACA
D10Chm272	214	NW_047336	12 267 541			Produit non spécifique	ATACAGGTCGGGCTGTCTCT CCTGGGTAGGGATGGAGTTT
D10Chm273	297	NW_047336	21 821 101	55-60	P	S>L	CTTTGGTCTCCCTTCCTGTT GGAAGACTGGGCACAGAAAA
D10Chm274	175	NW_047336	21 825 841			Produit non spécifique	AACACAGCACGTTACCACCTC TCTGGCCAGTGTGTGTGAGT
D10Chm275	227	NW_047336	1 125 121	55-60	A	S=L	CAGCTCCAGGGAGTCTCAG CTGTGTTCTGTACAGGGAGA
D10Chm276	236	NW_047343	1 131 961	60	A	S>L	TCCAGATGGTCTCCATTTCC AAAGGGAGGAGGGAAAACT
D10Chm277	241	NW_047341	626 041	55-60	A	S=L	GAATGTGGGGTTTCTCCGTA AAGATTCGAGAGCCAGTCCA
D10Chm278	244	NW_047341	609 243	55-60	A	S=L	CTGGTCAAGAATGCAGAAGG GGGCACTTCAACGAATAGGT
D10Chm279	205	NW_047336	12 371 521			Aucun produit	GGTTCTCCCCAAGTTCAGT GAATCGAACCCAGGTCCTTT
D10Chm280	194	NW_047336	12 373 081	55-60	A	S<L	GGGCTACAGGAGACCATCTG CAGGGTTGGGGATTAGCTC
D10Chm281	243	NW_047341	781	55-60	A	S=L	ATTGTAATGGCCTCCTGTGG CGTGCACATACCTTGGCATA
D10Chm282	292	NW_047341	90 121	55-60	A	S=L	AGCCTGCGATGTAGACCAAA GTCACAATGTGGTCCCTCCT
D10Chm283	233	NW_047341	2 581	60	A	S=L	GCAGTATGGAGGAGCAGACC GAAGTTACATGCAGGCGTGA
D10Chm284	193	NW_047341	111 781			Aucun produit	GGGGTCTACTACAAAAGGCTGT CGTGTGTGTGAGAGAGAGAGA
D10Chm285	241	NW_047340	4 729 501	55-60	A	S=L	ACCCATAGGTTCTGCACAGG CCCAGCTCTGACAAGGCTAA
D10Chm286	228	NW_047340	4 714 561	55-60	A	S=L	GCTCCTTTCTCTCGGGTTCT CAGCAGGAGTTCAGGTCAG
D10Chm287	221	NW_047340	4 702 981	55-60	A	S=L	CGCTAACCTGAGGACCAAAC ATCCAGGGTTAGGGATACG
D10Chm288	232	NW_047340	4 700 761	55-60	A	S=L	AGGAACATGTGGCTGAGCAT TGACCAGGAAGATTCCCAAG
D10Chm289	154	NW_047340	4 708 381	55-60	A	S=L	GGAGTCTACCCATGCCACAC CACCCAGACTGTGTCCCTTA
D10Chm290	222	NW_047340	4 700 041	55-60	A	S=L	CTGCTGTCCATTAGGAGATGG TGGTGCCAAAGAGCTGAGTA

Les contigs sont identifiés par un alignement de la séquence des marqueurs avec la base de données du génome du rat (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/BlastGen/BlastGen.cgi?taxid=10116>). En gras, les marqueurs polymorphiques. A = agarose, F = forward, L = Lewis, P = polyacrylamide, pb = paires de bases, Polym. = polymorphisme, R = reverse, S = «Dahl salt-sensitive», T-PCR = température d'hybridation.

Tableau V Marqueurs microsatellites utilisés pour l'établissement de lignées congéniques

Marqueur	Taille (pb)	Contig (version 2)	Position dans le contig (pb)	T-PCR (°C)	Gel	Polym.	Amorce F (5' > 3') Amorce R (5' > 3')
D10Chm4	194	NW_047336	16 518 221	55	A	S<L	ACACGCTTCCTTGGCTTTAG ACACGCTTCCTTGGCTTTAG
D10Chm10	201	NW_047341	668 910	55	A	S>L	CTCCCCACCAAGGGTTAGTT AGCAGACATCCACCCTGACT
D10Chm14	218	NW_047343	519 167	55	P	S<L	ACTCCCAATCTTCCCCATTT TGTCAGGGATGTGGAGACAA
D10Chm29	156	NW_047336	17 097 709	60	A	S<L	ACCAGGGTCCTTTGGAAGAG GTCAGCCTCCTTCATGCTG
D10Chm128	172	NW_047336	11 485 562	55	A	S>L	GCTTCCATTTCTCCCTTCT AAGGTGGTTCTCTGCCACAC
D10Chm154	233	NW_047336	22 718 653	55	A	S>L	GGGAGCTCAGAGTCTCAAGG CCCACAGAATGTGACACCAC
D10Chm155	193	NW_047336	22 201 331	55	A	S>L	AGGCGAAGAACAATGGAAGA AGGAAAAGGAAGGTGAGGA
D10Chm156	231	NW_047336	22 213 395	60	A	S>L	TGCAGATTATCCAGTGATCCA TGATCGCCACATAGATGGTC
D10Chm167	247	NW_047336	11 588 300	55	A	S<L	GAGGTTCTGATTGCCCTCCT CTCCTGAACGGATGACAAGG
D10Chm197	231	NW_047336	17 166 673	55	A	S>L	CTTACCCACTGCAAGGAAGC TCCAAGAAGCCTGCAATTCT
D10Chm198	249	NW_047336	17 179 713	55	A	S<L	CCCACATGCACAAACAGACT CCACTGTGGGCCCTTTTCTTA
D10Chm212	222	NW_047336	15 523 746	55	A	S<L	GTATGTGCTTCTGCGCATGT ATTTGCAGAGTCTCCCACGA
D10Chm216	200	NW_047336	17 588 884	55	A	S<L	TGAGGCTGACCTCGAACTCT CTCAAGTGCCTGAGCATGTG
D10Chm222	222	NW_047336	17 476 753	55	A	S>L	TCTGGGAAGAGAGGCAAGAA GGAGCCCCTGGTACTTTGTT
D10Chm224	247	NW_047336	15 704 493	60	A	S>L	GCCTACCTACGCAACGGTAA CCAACCCAACCACCTGTAAC
D10Chm229	233	NW_047336	10 554 241	55	A	S<L	CCTGCCCCCTACTATCACAG GGTTCCCTTTCTGGTAGA
D10Got107	98	NW_047336	19 711 802	55	A	S<L	AGTTGACACATAAAACCAGCC CGATCACACAAAGACACAAGT
D10Got110	141	NW_047336	20 354 995	55	A	S<L	TGAAAAGATACAATTGCCCT AAATTACATTTTATTTATCACTGG
D10Got112	125	NW_047336	20 857 033	55	A	S<L	CATGGGCTGTGATTTGCA TCTTATCTTCTAAGCAGAACCACG
D10Got125	258	NW_047338	2 360 452	55	A	S<L	CAAGACAAAAACAAGATGGATGAC GCCCTTTTATTTCTAGGGAATG

Marqueur	Taille (pb)	Contig (version 2)	Position dans le contig (pb)	T-PCR (°C)	Gel	Polym.	Amorce F (5' > 3') Amorce R (5' > 3')
D10lgfbp4	140	NW_047339	612 323	55	A	S>L	GCTTATCAGATTGGGCGTTC AAGACAGAGTTGTGGCTGGG
D10Mco30	257	NW_047336	18 546 659	60	A	S>L	ACGATTTTCTGTCCCTTGTCTGAG TGGTTTAGCTAGGTGTGGCATCTG
D10Mgh1	154	NW_047343	4 835 939	55	A	S<L	TTTTGCTTAAGAGAAAACAATCCC ACACAAGGTGGACATCTCCTG
D10Mgh6	139	NW_047336	8 677 172	55	A	S<L	CCTGCCTAAGTAATACGAGTGGTC CCAGACCTTGATGCTGGGT
Nos2	380	NW_047336	6 056 090	55	A	S>L	GTTGCTCCGTATGTATCCATCC CTGAGGTTCTCTTAGCT
D10Rat11	187	NW_047343	1 918 820	55	A	S<L	CCACCTGGTAACACAGCATTT CCACAGGGACATTTTCACACT
D10Rat24	167	NW_047336	20 229 774	55	A	S<L	GGTTGGTGACTCAGGTGACA TCACAGCACTCGAACACACA
D10Rat27	163	NW_047336	18 091 194	60	A	S<L	ATTGTATTGGTTGCTTGGGG TCCTTCTCCTAATGGGCATG
D10Rat123	243	NW_047336	10 682 568	55	A	S>L	TCCTTCTCCTAGTGCACTGC ACAGACCTTGACTTGGGCAT
D10Rat127	224	NW_047339	62 430	55	A	S>L	GCAAAATACACTTGGGCCAT GCTGCCATTCTCAGTCCTTC
D10Rat194	235	NW_047336	16 705 730	55	A	S>L	GTCTCTTCTAGCCCCCATCC TACACACATCAGAGCCAGGC
D10Rat204	216	NW_047340	3 509 168	55	A	S>L	CTACCACAATTGGCTGGCTT CTTCACAAACGAGAGCCTGA
D10Wox4*	105	NW_047336	9 138 994	50	A	L<S	GGCCACCATACTAGGAACAC TGAGTCATCGCCCTAGCC

Les contigs sont identifiés par un alignement de la séquence des marqueurs avec la base de données du génome du rat (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/BlastGen/BlastGen.cgi?taxid=10116>). A = agarose, F = forward, L = Lewis, P = polyacrylamide, pb = paires de bases, Polym. = polymorphisme, R = reverse, S = «Dahl salt-sensitive», T-PCR = température d'hybridation. (*) signifie que la réaction PCR doit être effectuée avec du diméthylsulfoxyde (DMSO).

8.1.3 Souches congéniques, sous-souches et doubles congéniques

Les souches congéniques ont été construites tel que décrit au chapitre 5. La souche S étant utilisée comme souche réceptrice, et la souche L comme souche donneuse. À chaque génération, les rats sont testés avec les 87 marqueurs du tableau III.

De même, les sous-souches congéniques sont obtenues par le croisement d'une souche congénique avec la souche réceptrice S. Les événements de recombinaison durant la méiose peuvent alors introduire des allèles S dans la région d'intérêt. Le croisement frère-sœur des animaux qui sont hétérozygotes SL, pour la même portion de la région d'intérêt, permet d'obtenir des individus qui seront homozygotes SS pour cette même portion. La région d'intérêt est ainsi diminuée. Les marqueurs microsatellites des tableaux IV et V sont utilisés pour localiser, le plus précisément possible, les événements de recombinaison.

Des souches doubles congéniques peuvent être obtenues à partir du croisement de deux souches congéniques. Encore une fois, le génotypage et la sélection des meilleurs individus permettent d'arriver à ce résultat.

8.2 Mesure de la pression artérielle

Trois méthodes peuvent être utilisées pour mesurer la pression artérielle chez le rat : le resserrement de la queue, la télémétrie et le cathéter artériel⁽¹⁴⁶⁾. La méthode par resserrement de la queue est rapide et peu dispendieuse. Elle permet donc 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 mm Hg. De plus, l'immobilisation physique imposée par cette méthode cause un stress, et ceci peut faire varier la pression artérielle. Ensuite, il est important d'être constant quand à l'heure choisie pour mesurer la pression artérielle. En effet, celle-ci varie selon l'heure du jour⁽¹⁴⁷⁾.

Pour toutes ces raisons, la pression artérielle des lignées congéniques est mesurée par radiotélémétrie à l'aide du système de Data Sciences Inc (St-Paul, Minnesota, USA). De plus, cette méthode est fiable et sensible. Elle est directe, continue et permet de mesurer la pression artérielle à long terme sans interruption.

Des couples de rats des souches à étudier, et de la souche témoin S, sont croisés au même moment. En raison des variations de pression sanguine dues au cycle oestral, seul les rats mâles sont sélectionnés pour la télémétrie. Autant que possible, ils sont choisis à partir de différentes portées, afin de minimiser l'impact potentiel de cette dernière. Les rats choisis sont sevrés à l'âge de 21 jours et nourris avec une diète 0,2% NaCl (Harlan Teklan 7034) jusqu'à l'âge de 35 jours. Ensuite, ils sont nourris avec une diète à haute teneur en sel (2% NaCl, Harlan Teklan 94217). Ceci a pour but d'accélérer le développement de l'hypertension chez les rats atteints. Ces deux diètes sont faites de maïs, de blé et de soya. Elles ne contiennent aucun ingrédient d'origine animale. Elles ont une teneur approximative de 19% de protéines, 5% de gras, 3% fibres brutes, 0.86% de calcium, 0.64% de phosphore, 0.72% de potassium et 0.15% de magnésium.

La sonde de télémétrie est implantée par chirurgie à l'âge de 56 jours. Les rats sont anesthésiés par inhalation d'isoflurane : 4% pour les trois premières min, puis 1,5-2% pour le reste de l'intervention. Le cathéter de la sonde est inséré dans l'artère fémorale, et il y pénètre jusqu'au niveau de l'aorte abdominale. Il est retenu et fixé par des sutures au vaisseau sanguin. Le corps de l'implant est, quant à lui, fixé au muscle de la cavité abdominale. La sonde transmet les données recueillies par radiotélémétrie à une plaque située sous la cage de chaque animal. Ces plaques sont reliées à un ordinateur qui accumule les données.

Une récupération post-chirurgicale de 14 jours est accordée aux rats implantés avant l'enregistrement des données de pression. Durant les trois premiers jours, ils sont nourris de Jello-O[®] contenant un analgésique – la buprenorphine – à dose de 0,5% mg/kg. Ils sont ensuite nourris de la diète 2% NaCl additionnée de Ensure milkshake[®] au chocolat. Ce supplément leur est administré pendant cinq jours. Il stimule leur appétit et la prise de poids. Par la suite, ils sont nourris seulement avec la diète contenant 2% NaCl et ce jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Les valeurs de pression artérielle systolique (PAS), diastolique (PAD) et la pression artérielle moyenne (PAM) sont prises et enregistrées à partir du jour 70, et ce pour une période de dix à vingt jours. Pour chaque rat, le système effectue une mesure des trois paramètres durant dix sec, à chaque deux min en continu. Les animaux sont ensuite sacrifiés et les sondes sont récupérées. Chaque sonde de télémétrie est calibrée avant et nettoyée après chaque usage selon les recommandations du fabricant.

8.3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques permettant d'évaluer la différence de PAM entre une lignée congénique et le témoin S sont effectuées à l'aide du programme SYSTAT 9 (SPSS Sci. Chicago, IL). L'ANOVA à mesures répétées vise à déterminer si, dans toutes les souches comparées, une ou plusieurs sont différentes des autres. Ce type d'ANOVA tient compte du fait que les paramètres sont mesurés sur plusieurs jours. Lorsque l'ANOVA à mesures répétées est significative, un test de Dunnett est effectué pour déterminer quelles souches sont significativement différentes de la souche témoin S.

Si la pression artérielle d'une souche est significativement différente du témoin S, la région couverte par le congénique est considérée comme contenant un QTL de la pression artérielle. Cette souche est alors dite positive. Une souche qui est significativement non différente du témoin S est dite négative. Afin de déterminer une région QTL (intervalle dans lequel se trouve un QTL), les lignées congéniques positives et négatives sont comparées. Les QTLs sont localisés dans les régions couvertes par une souche positive, mais non couvertes par une souche négative.

Une ANOVA à mesures répétées, suivie d'un test de tukey, permet de comparer les différences de pression entre : les souches congénique homozygotes et la souche S, les souches congéniques homozygotes et les souches congéniques hétérozygotes, les souches congéniques hétérozygotes et la souche S.

Une ANOVA 2x2 est utilisée pour déterminer s'il y a une interaction entre des QTLs. Elle permet d'évaluer si l'effet de pression observé, pour une souche contenant de multiple QTLs, est significativement différent de la somme prédite des effets de chacun des QTLs individuels.

Puisque les résultats de PAS et de PAD sont consistants par rapport aux résultats de PAM, seul ces derniers sont utilisés pour les analyses statistiques.

Résultats

Chapitre 9 – Pression artérielle des lignées congéniques du chromosome 10

9.1 Carte physique des lignées congéniques obtenues pour le chromosome 10

Plusieurs souches et sous-souches congéniques ont été construites afin de couvrir le chromosome 10 du rat S. Vingt d'entre elles sont présentées à la Figure 7. Pour chaque lignée, les lignes rouges représentent la région du chromosome provenant de la souche S. Les lignes bleues représentent la région S remplacée par la région homologue provenant du rat L. Les encadrés rouges représentent les régions d'incertitude pour la localisation de l'événement de recombinaison. Les autres chromosomes ne sont pas représentés, mais proviennent de la souche hypertendue S. La carte physique du chromosome 10 est située à la gauche de la figure. Les contigs et leur taille, en paires de bases, y sont indiqués. Les marqueurs microsatellites y sont localisés, mais leur positionnement n'est pas à l'échelle. Leur position exacte dans les contigs est présentée dans les tableaux IV et V. Au bas de la figure, les souches sont noté +, si la différence de pression est significative par rapport à la souche témoin S. Elles sont notées par un –, si cette différence n'est pas significative.

Les sous-souches ont été obtenues à la suite d'événements de recombinaison afin de diminuer les régions QTLs identifiées précédemment⁽¹¹²⁾. Les sous-souches C10S.L27 et C10S.L28 dérivent de la souche C10S.L15. Les sous-souches C10S.L20, C10S.L30 et C10S.L18 proviennent de la souche C10S.L17. Cette dernière provient de la souche C10S.L9. La souche C10S.L16 a donné naissance aux sous-souches C10S.L26 et C10S.L1. Les sous-souches C10S.L31, C10S.L32, C10S.L12 et C10S.L25 dérivent de la souche C10S.L11. Les souches C10S.L4, C10S.L10 et C10S.L11 dérivent de la souche SLC10.

Deux souches doubles congéniques ont aussi été obtenues. La souche C10S.L15XC10S.L16 couvre les régions du C10QTL4 et du C10QTL2, alors que la souche C10S.L9XC10S.L16 couvre les régions du C10QTL1, du C10QTL5 et du C10QTL2.

Cinq régions QTL ont été identifiées sur le chromosome 10 du rat S. La région du C10QTL4 est comprise dans un intervalle de 136 kb, entre les marqueurs D10Chm255 et D10Chm280. La région du C10QTL1 est comprise entre les marqueurs D10Chm4 et D10Chm29. Sa taille est de 570 kb. L'intervalle entre les marqueurs D10Chm197 et D10Chm216 est de 420 kb et définit la région du C10QTL5. C10QTL3 est localisé dans un intervalle de 1862 kb entre les marqueurs D10Got112 et D10Chm154. Finalement, C10QTL2 est situé dans un intervalle de 613 kb entre les marqueurs D10Chm14 et D10Chm276.

Chromosome10 du rat

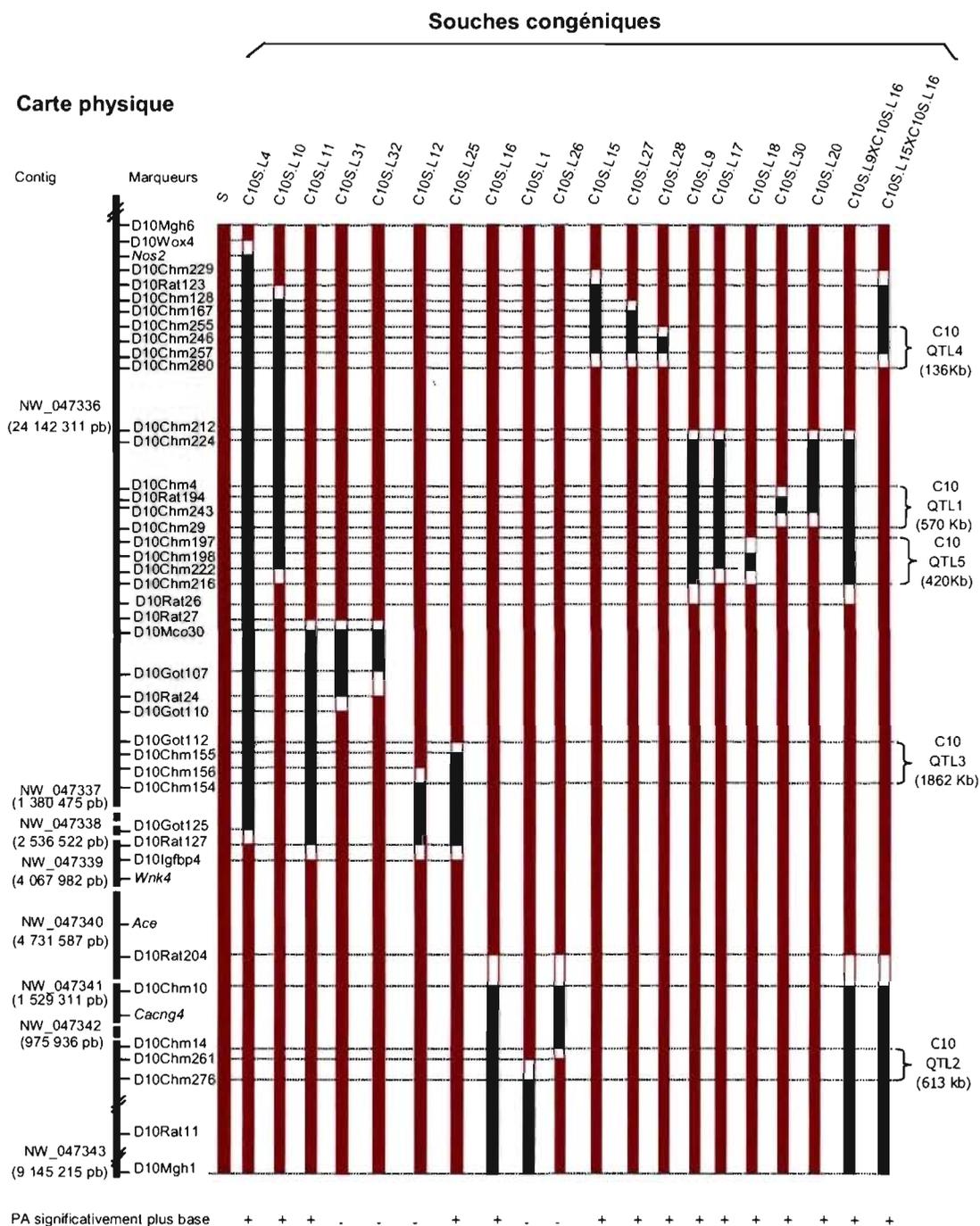


Figure 7 Carte physique des lignées congéniques obtenues pour le chromosome 10 du rat S. Les lignes rouges représentent la région du chromosome provenant de la souche S. Les lignes bleues représentent la région S remplacée par la région homologue provenant du rat L. Les encadrés rouges représentent les régions d'incertitude pour la localisation de l'événement de recombinaison. pb = paires de bases, QTL = quantitative trait loci.

9.2 Mesure de la pression artérielle des lignées congéniques

Les pages suivantes présentent les résultats de PAS, PAD et PAM pour chacune des souches. Afin de simplifier la présentation des résultats, chaque point sur les graphiques représente une moyenne sur 24 heures des mesures prises toutes les 4 heures.

Chaque figure présente les résultats pour la souche S, la souche L et quatre souches congéniques. La Figure 8 présente les résultats des souches C10S.L4, C10S.L10, C10S.L31 et C10S.L11; la Figure 9 présente ceux des souches C10S.L12, C10S.L32, C10S.L25 et C10S.L16; la Figure 10 ceux des souches C10S.L1, C10S.L26, C10S.L15 et C10S.L27; la Figure 11 présente ceux des souches C10S.L28, C10S.L9, C10S.L17 et C10S.L18; la Figure 12 présente ceux des souches C10S.L20, C10S.L30, C10S.L15XC10S.L16 et C10S.L9XC10S.L16.

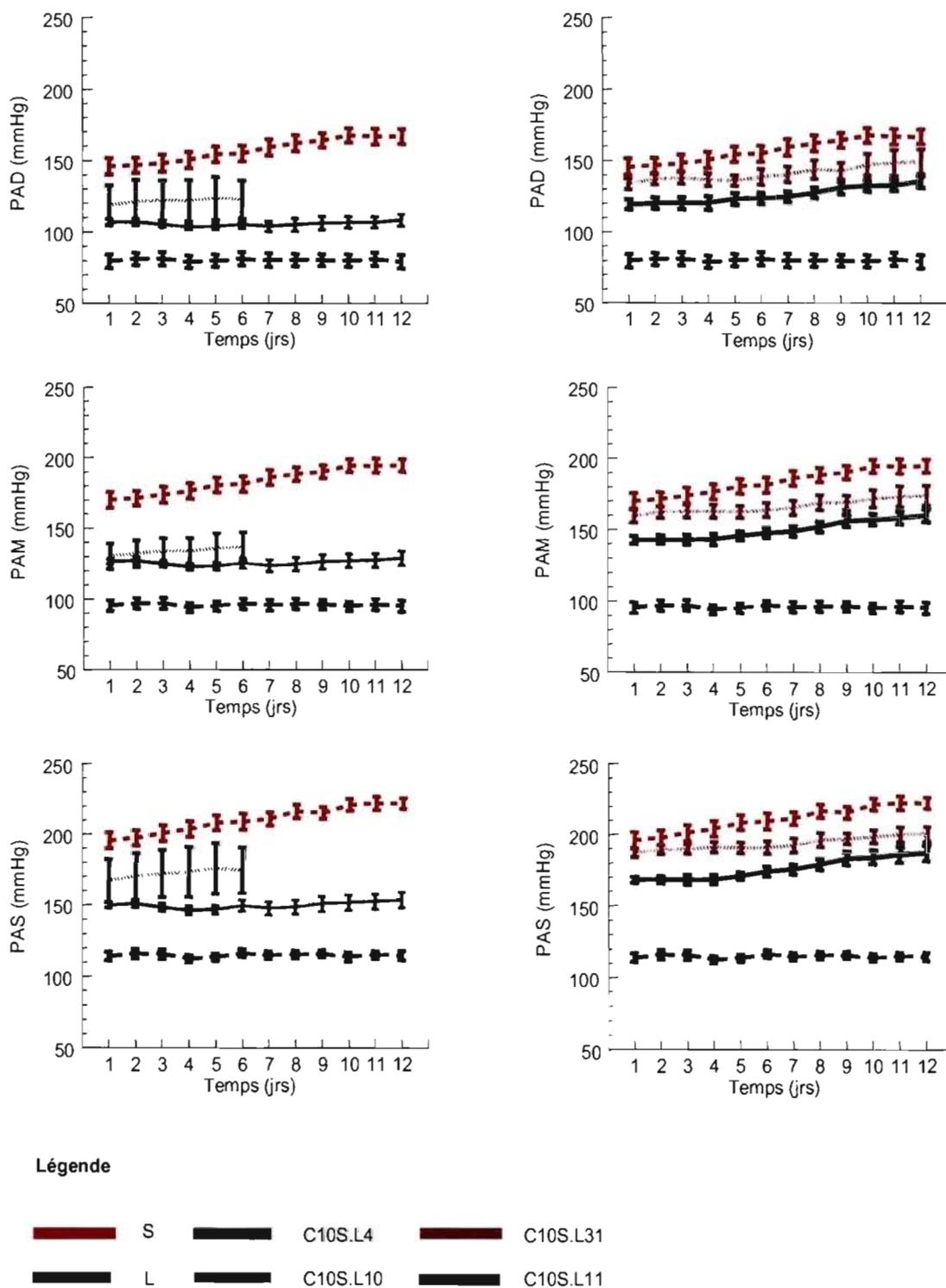


Figure 8 Pression artérielle des souches C10S.L4, C10S.L10, C10S.L31 et C10S.L11
 Comparaison des composantes de la pression artérielle entre les lignées congéniques, la souche S et la souche L. Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h \pm erreur standard. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètre de mercure (mm Hg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

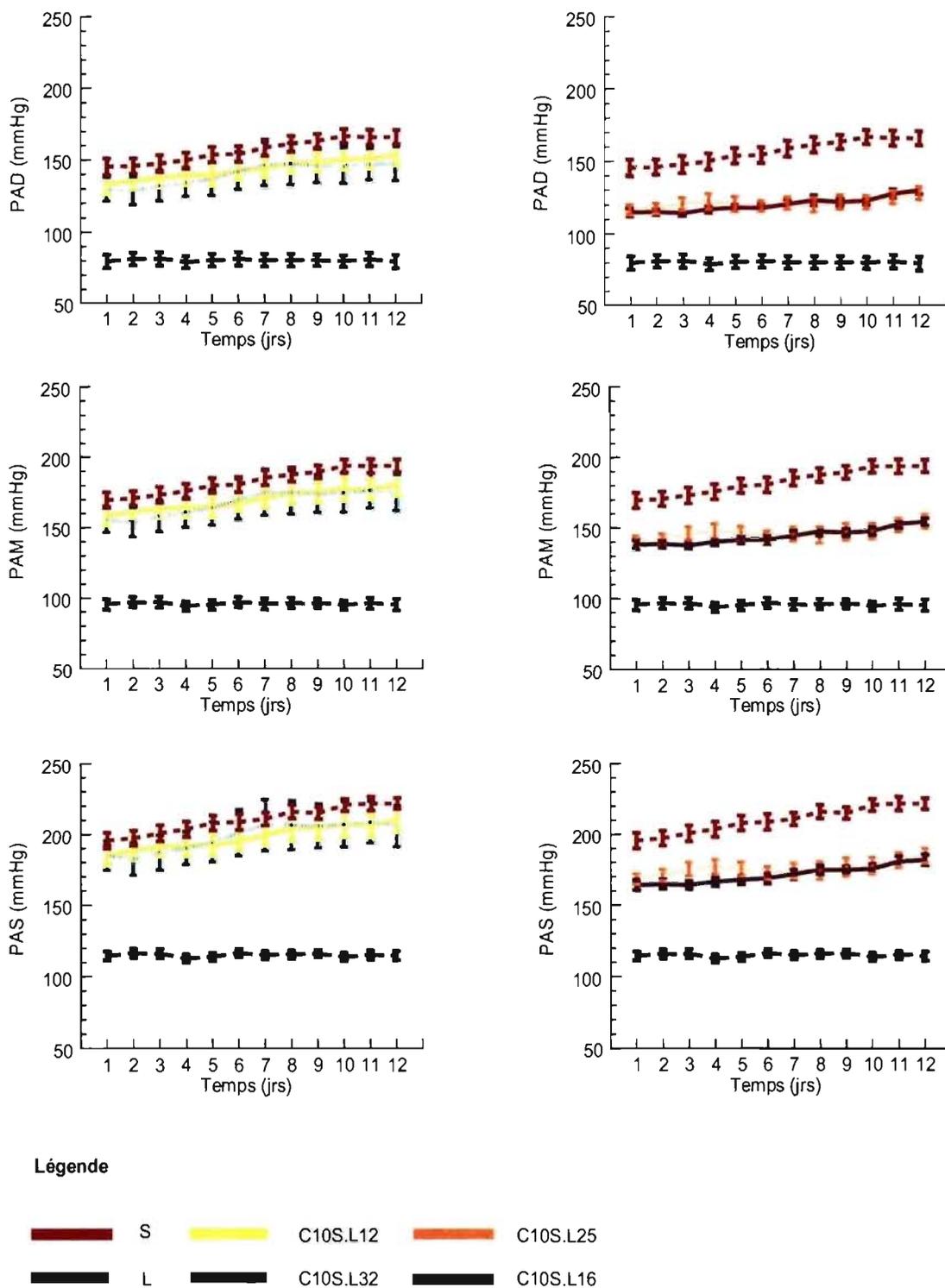


Figure 9 Pression artérielle des souches C10S.L12, C10S.L32, C10S.L25 et C10S.L16
 Comparaison des composantes de la pression artérielle entre les lignées congéniques, la souche S et la souche L. Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h \pm erreur standard. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètre de mercure (mm Hg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

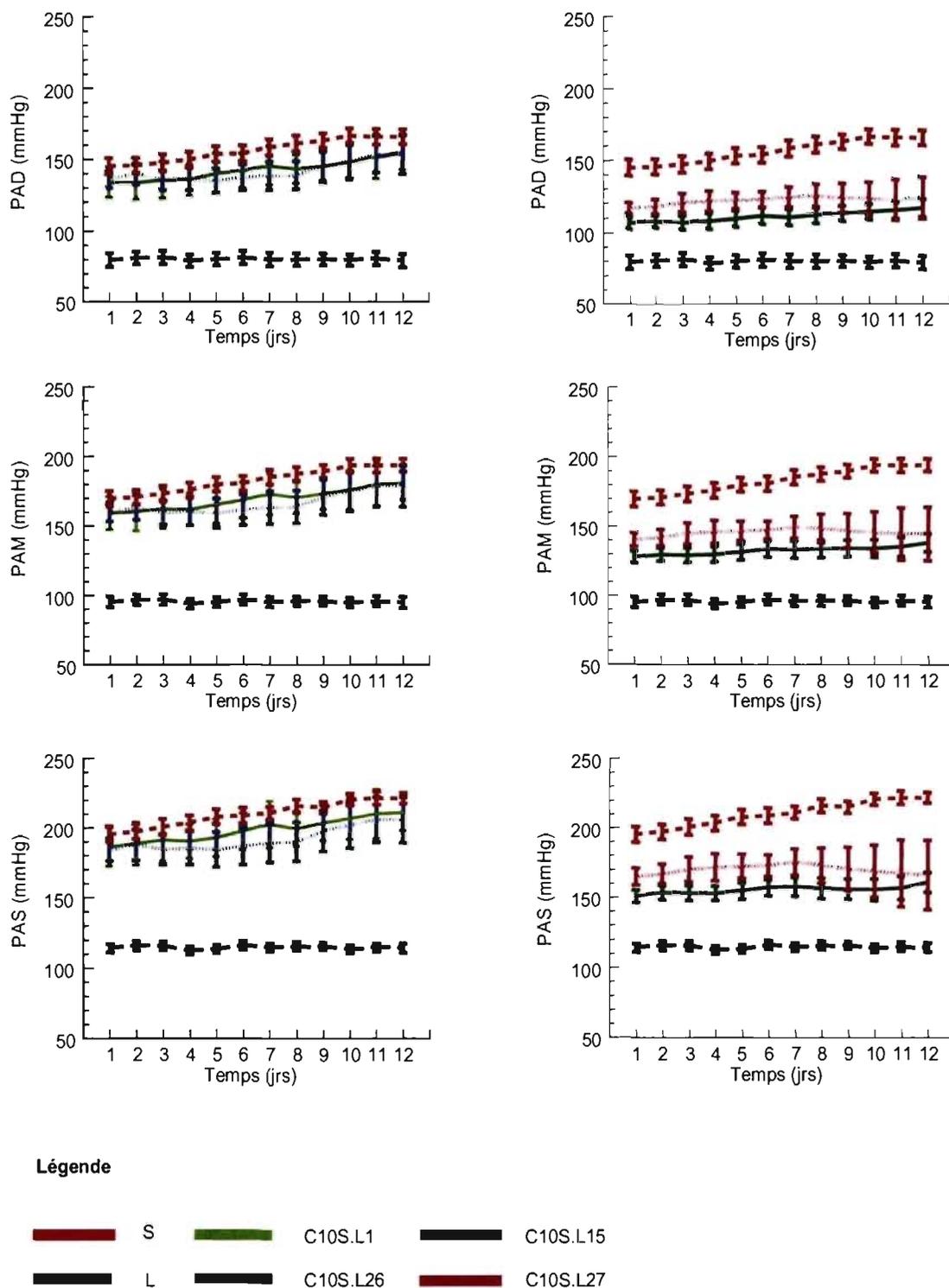


Figure 10 Pression artérielle des souches C10S.L1, C10S.L26, C10S.L15 et C10S.L27
 Comparaison des composantes de la pression artérielle entre les lignées congéniques, la souche S et la souche L. Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h \pm erreur standard. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètre de mercure (mm Hg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

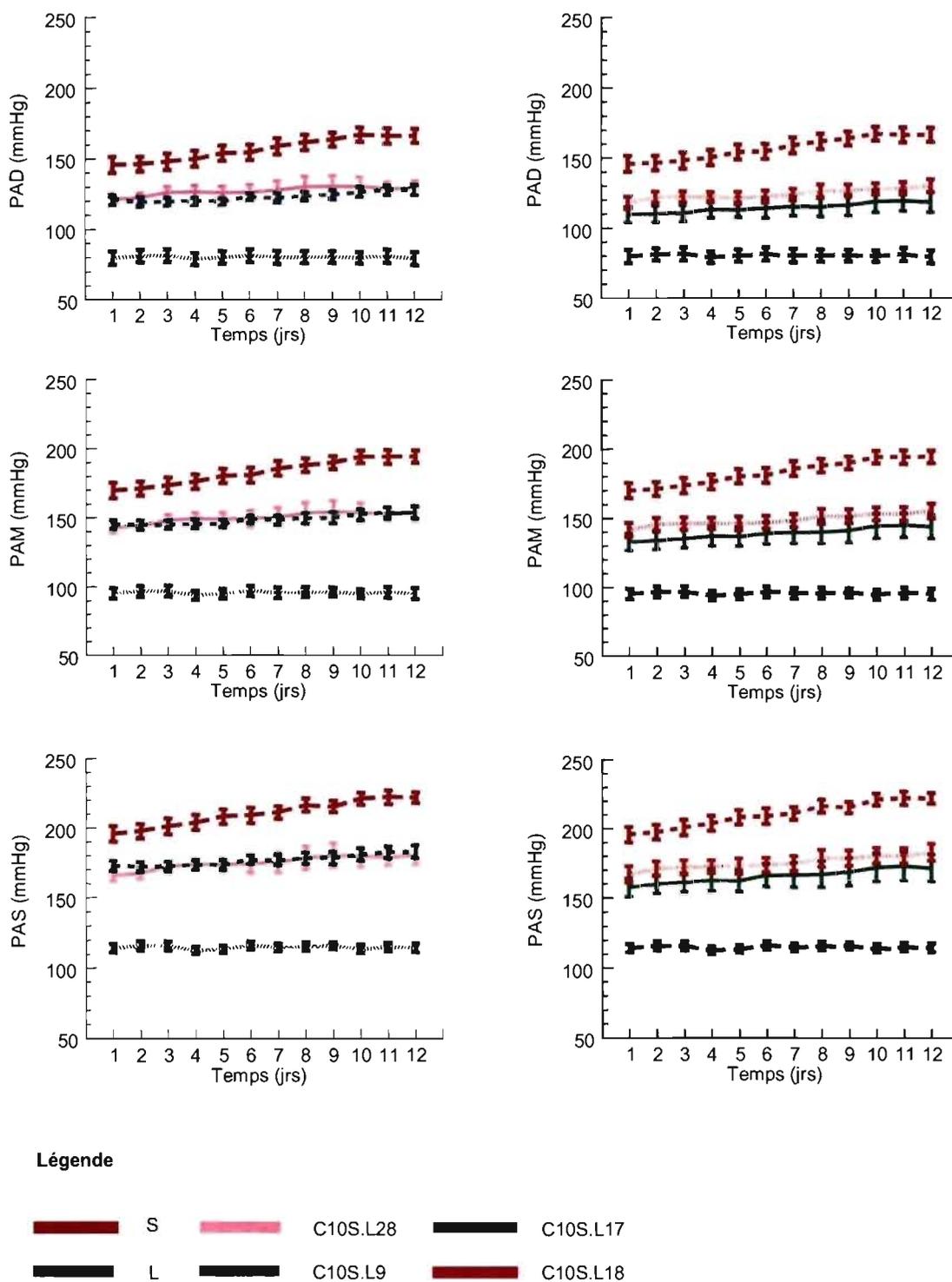


Figure 11 Pression artérielle des souches C10S.L28, C10S.L9, C10S.L17 et C10S.L18
 Comparaison des composantes de la pression artérielle entre les lignées congéniques, la souche S et la souche L. Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h \pm erreur standard. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètre de mercure (mm Hg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

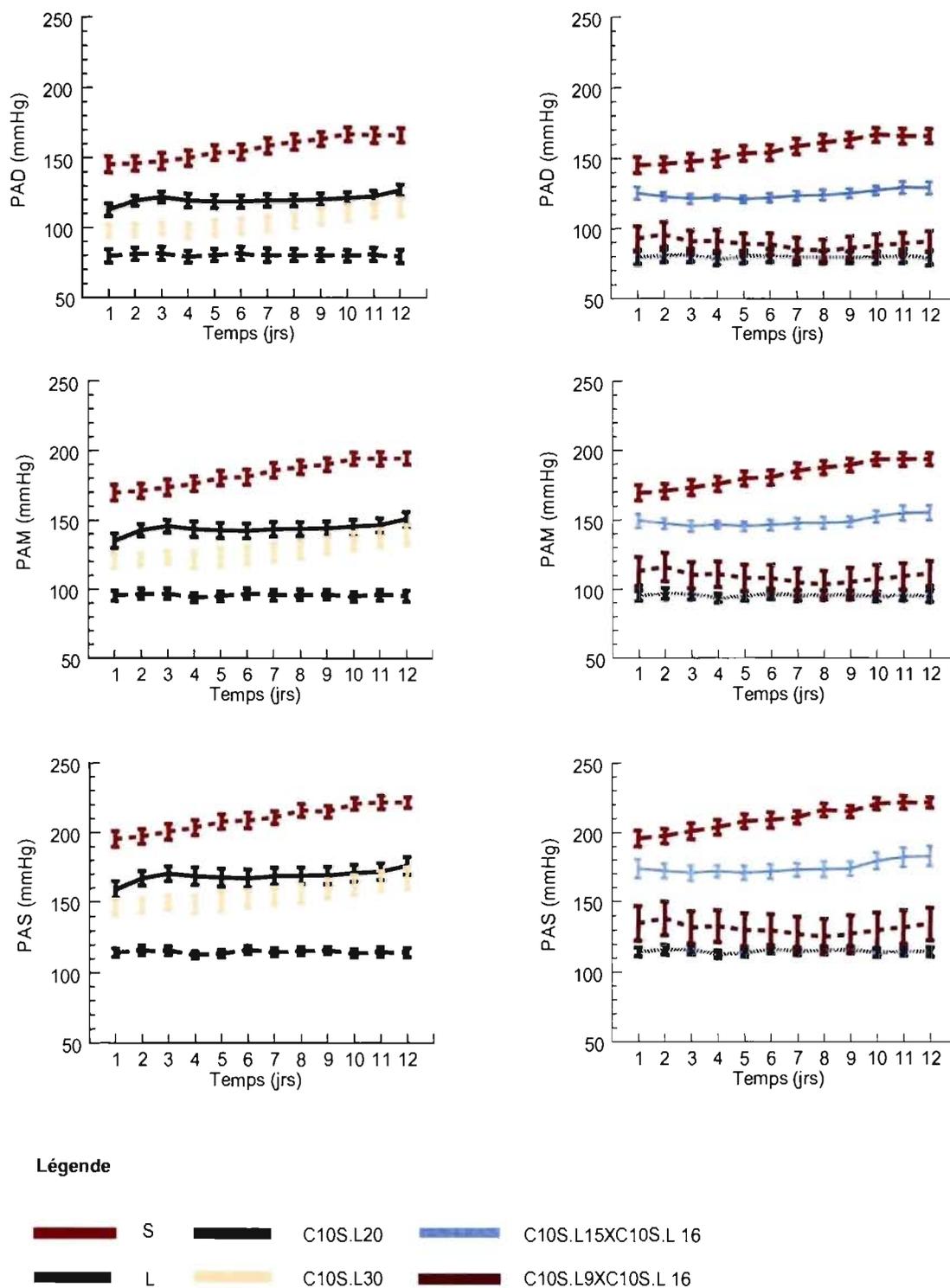


Figure 12 Pression artérielle des souches C10S.L20, C10S.L30, C10S.L15XC10S.L16 et C10S.L9XC10S.L16. Comparaison de composantes de la pression artérielle entre les lignées congéniques, la souche S et la souche L. Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h \pm erreur standard. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètre de mercure (mm Hg). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

9.2.1 Résumé des résultats de pression artérielle

Le tableau VI résume les résultats de PAM, PAS et PAD obtenus pour les différentes souches. La PAM diminue significativement dans les souches C10S.L4, C10S.L9, C10S.L10, C10S.L11, C10S.L15, C10S.L16, C10S.L17, C10S.L18, C10S.L20, C10S.L25, C10S.L27, C10S.L28, C10S.L30, C10S.L9XC10S.L16 et C10S.L15XC10S.L16 par rapport à la souche S. La PAM n'est pas significativement différente de la souche S pour les lignées C10S.L1, C10S.L12, C10S.L20, C10S.L31 et C10S.L32.

Tableau VI Pressions artérielles moyennes, diastoliques et systoliques des souches S, L et des lignées congéniques construites pour le chromosome 10 du rat S.

Mesure	n =	PAD		PAM				PAS		
		\bar{x}	Erreur standard	\bar{x}	Erreur standard	Différence de PAM entre la souche congénique et S (mmHg)	ANOVA + test de Dunnet (P)	PA. significativement plus basse	\bar{x}	Erreur standard
S	16	157	5	183	5				211	5
L	6	80	4	96	3	-87	<0,001	+	115	3
SLC10	6	92	6	113	6	-70	<0,001	+	137	5
C10S.L4	5	122	13	134	8	-49	0,002	+	172	15
C10S.L10	6	106	3	126	3	-57	<0,001	+	150	3
C10S.L11	7	137	4	161	4	-22	0,003	+	188	5
C10S.L31	5	141	5	166	4	-17	0,170	-	193	3
C10S.L32	5	427	7	168	11	-15	0,149	-	198	12
C10S.L12	7	144	6	170	6	-13	0,117	-	198	7
C10S.L25	8	122	4	147	4	-36	0,002	+	176	4
C10S.L16	7	121	2	145	2	-38	<0,001	+	171	3
C10S.L1	4	143	10	169	11	-13	0,279	-	198	12
C10S.L26	5	142	8	166	10	-17	0,108	-	192	12
C10S.L15	9	112	5	133	5	-50	<0,001	+	156	6
C10S.L27	4	123	6	146	8	-37	0,011	+	170	10
C10S.L28	10	127	5	150	5	-33	<0,001	+	175	5
C10S.L9	10	123	3	149	3	-34	<0,003	+	177	3
C10S.L17	6	115	6	139	7	-44	0,002	+	166	8
C10S.L18	12	125	4	149	4	-34	<0,001	+	175	5
C10S.L30	8	105	5	128	5	-55	0,001	+	155	6
C10S.L20	11	120	4	144	5	-39	<0,001	+	169	6
C10S.L9 X C10S.L16	4	90	7	109	8	-74	<0,001	+	131	10
C10S.L10 X C10S.L16	4	125	3	149	4	-34	0,038	+	174	5

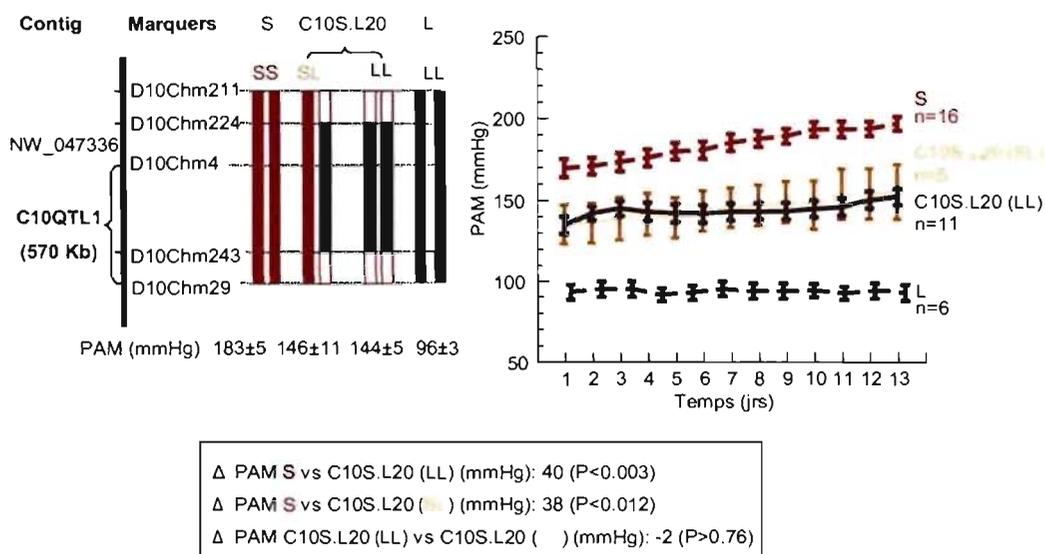
S, «Dahl salt-sensitive»; L = Lewis, n = taille de l'échantillon, \bar{x} = moyenne, PAM = Pression artérielle moyenne, PAS = pression artérielle systolique, PAD = pression artérielle diastolique, mm Hg = millimètres de mercure.

9.3 Interactions alléliques

Les souches congéniques homozygotes et hétérozygotes pour C10QTL1, C10QTL2, C10QTL3 et C10QTL4, ainsi que leurs résultats de PAM, sont présentés côte à côte dans les Figures 13 et 14. Pour cette étude, la souche C10S.L15 définit la région du C10QTL4, la souche C10S.L20 définit la région du C10QTL1, la souche C10S.L16 définit la région du C10QTL2 et la souche C10S.L11 définit la région du C10QTL3. Pour ces quatre QTLs, les pressions des souches congéniques homozygotes (LL) et des souches congéniques hétérozygotes (SL) sont significativement différentes de S. Pour chacun de ces QTLs, la pression n'est pas significativement différente entre les souches congéniques homozygotes (LL) et des souches congéniques hétérozygotes (SL).

Ces résultats démontrent que, chez l'hétérozygote, une seule copie de l'allèle L est suffisante pour diminuer la pression artérielle au même niveau que l'homozygote ayant deux copies de cet allèle.

C10S.L20 définissant C10QTL1



C10S.L16 définissant C10QTL2

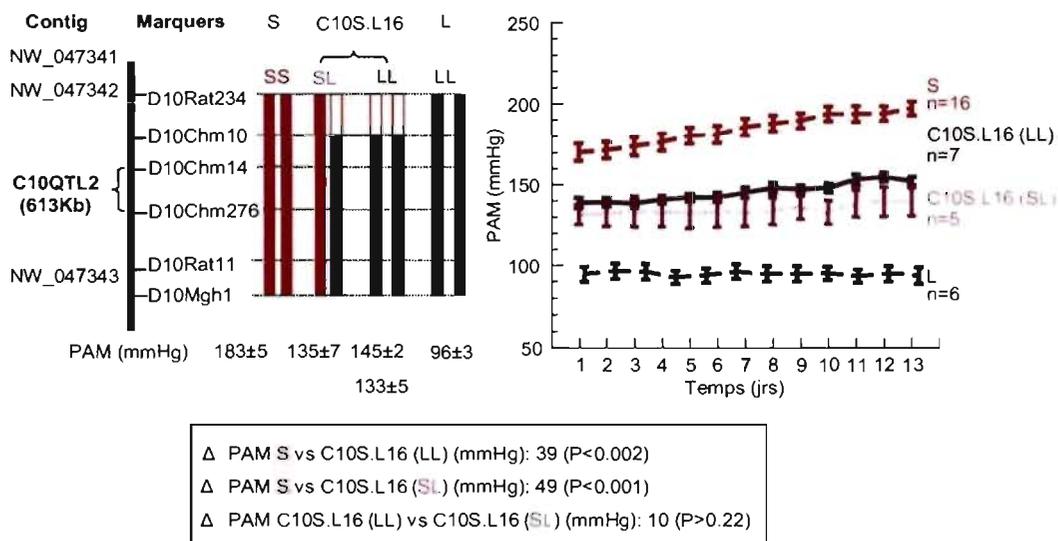
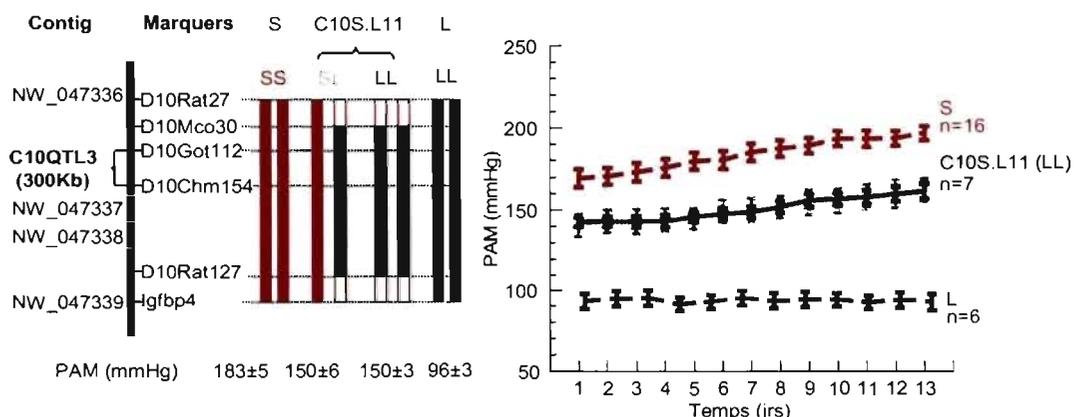


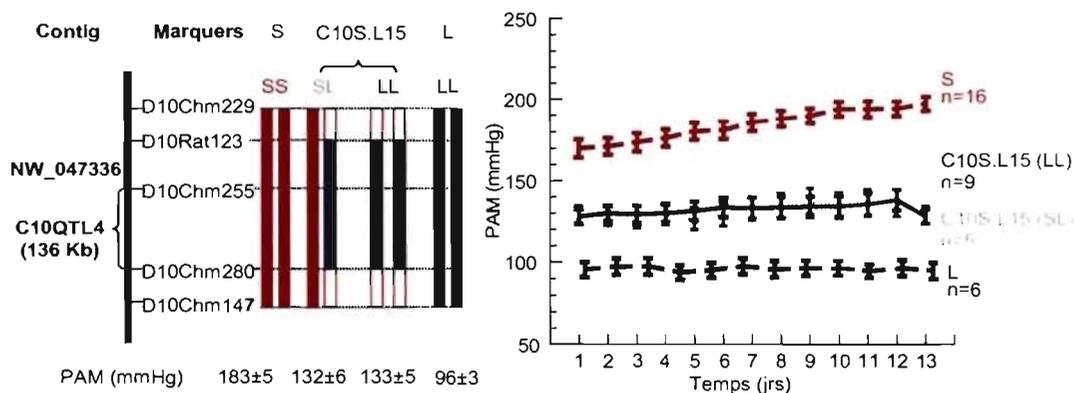
Figure 13 Comparaison des pressions artérielles moyennes entre les souches homozygotes et hétérozygotes pour C10QTL1 et C10QTL2. La carte du chromosome et les marqueurs microsatellites sont présentés à gauche. Les lignes rouges représentent la région du chromosome provenant de la souche S et les lignes bleues celles provenant de la souche L. Les encadrés rouges représentent les régions d'incertitude pour la localisation de l'événement de recombinaison. La taille du QTL en mégabases (Mb) est indiquée entre parenthèses après chaque désignation de QTL. Que les souches soient hétérozygotes ou homozygotes, le reste de leur génome provient de la souche S. Les résultats de PAM sont présentés à droite. Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h ± erreur standard. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètre de mercure (mm Hg). n réfère à la taille de l'échantillon.

C10S.L11 définissant C10QTL3



Δ PAM S vs C10S.L11 (LL) (mmHg): 34 (P<0.006)
 Δ PAM S vs C10S.L11 () (mmHg): 34 (P<0.009)
 Δ PAM C10S.L11 (LL) vs C10S.L11 () (mmHg): 0 (P>0.98)

C10S.L.15 définissant C10QTL4



Δ PAM S vs C10S.L15 (LL) (mmHg): 51 (P<0.001)
 Δ PAM S vs C10S.L15 (SL) (mmHg): 52 (P<0.001)
 Δ PAM C10S.L15 (LL) vs C10S.L15 (SL) (mmHg): 1 (P>0.92)

Figure 14 Comparaison des pressions artérielles moyennes entre les souches homozygotes et hétérozygotes pour C10QTL3 et C10QTL4. La carte du chromosome et les marqueurs microsatellites sont présentés à gauche. Les lignes rouges représentent la région du chromosome provenant de la souche S et les lignes bleues celles provenant de la souche L. Les encadrés rouges représentent les régions d'incertitude pour la localisation de l'événement de recombinaison. La taille du QTL en mégabases (Mb) est indiquée entre parenthèses après chaque désignation de QTL. Que les souches soient hétérozygotes ou homozygotes, le reste de leur génome provient de la souche S. Les résultats de PAM sont présentés à droite. Chaque point sur le graphique représente une moyenne des lectures sur 24 h ± erreur standard. Les nombres sur l'axe vertical sont en millimètre de mercure (mm Hg). n réfère à la taille de l'échantillon.

9.4 Études d'interactions géniques

Une façon d'étudier l'interaction entre les cinq QTLs identifiés précédemment serait d'évaluer l'effet des QTLs dans des souches doubles et multiples congéniques. Cette approche est cependant limitée par la difficulté d'obtenir des événements de recombinaison entre des marqueurs rapprochés. Particulièrement entre ceux séparant C10QTL1, C10QTL4 et C10QTL5. Par exemple, pour obtenir un double congénique de C10QTL1 et C10QTL5, il faudrait obtenir deux événements de recombinaison entre D10Chm129 et D10Chm197. Ces deux marqueurs ne sont séparés que par 68 964 pb. La probabilité d'un événement de recombinaison dans un intervalle aussi petit implique le croisement d'un large nombre d'animaux.

Toutefois, certaines souches présentées à la Figure 7 contiennent plus d'un QTL et peuvent donc être utilisées pour étudier l'interaction génique. Les souches C10S.L17 et C10S.L9 contiennent les C10QTLs 1 et 5. La souche C10S.L10 contient ces deux QTLs et C10QTL5, alors que la souche C10S.L4 contient tous ces QTLs et C10QTL3.

Le croisement de deux souches congéniques préalablement établies a permis d'obtenir deux souches doubles congéniques, soit les souches C10S.L15XC10S.L16 et C10S.L9XC10S.L16. La souche C10S.L15XC10S.L16 couvre les régions C10QTL4 et C10QTL2, alors que la souche C10S.L9XC10S.L16 couvre les régions C10QTL1, C10QTL5 et C10QTL3. Cette technique n'a pas été utilisée pour créer de multiples congéniques en raison de la difficulté d'obtenir des animaux sans événement de recombinaison dans au moins une des régions d'intérêt.

Les Figures 15 et 16 résument l'analyse de l'interaction entre ces cinq QTLs. Pour chacun des graphiques, les colonnes représentent la différence de PAM, en mm Hg, entre une souche congénique et la souche S. C'est l'effet de diminution de la pression de la souche. Les deux premières colonnes représentent cet effet pour deux souches congéniques contenant un ou des QTLs. La troisième colonne montre l'effet

de diminution de la PAM pour une souche contenant les QTLs contenus dans les souches des deux premières colonnes. La dernière colonne montre l'effet prédit pour cette même souche, en cas d'additivité de l'effet des QTLs contenus dans les souches des deux premières colonnes.

La souche C10S.L17, contenant C10QTL1 et C10QTL5, a un effet de diminution de la pression observé différent de l'effet prédit en cas d'additivité de ces deux QTLs ($P < 0,001$). C10QTL1 et C10QTL5 interagissent donc de manière épistatique. La souche C10S.L10, contenant C10QTL1, C10QTL5 et C10QTL4, a un effet de diminution de la pression observé similaire à l'effet prédit en cas d'additivité de ces trois QTLs ($P > 0,104$). C10QTL4 a donc un effet additif à ceux des C10QTL1 et C10QTL5. De même, l'effet observé pour la souche C10S.L9XC10S.L16 est similaire à l'effet prédit ($P > 0,512$). C10QTL2 a donc un effet additif à ceux des C10QTL1 et C10QTL5. La souche C10S.L15XC10S.L16 contenant, C10QTL2 et C10QTL4, a un effet de diminution de la pression observé significativement différent de celui qui est prédit ($P < 0,002$). C10QTL2 et C10QTL4 interagissent donc de manière épistatique. La souche C10S.L4, contenant C10QTL1, C10QTL3, C10QTL4 et C10QTL5, a un effet de diminution de la pression observé significativement différent de celui qui est prédit ($P < 0,001$). C10QTL3 est donc épistatique aux C10QTLs 1, 4 et 5.

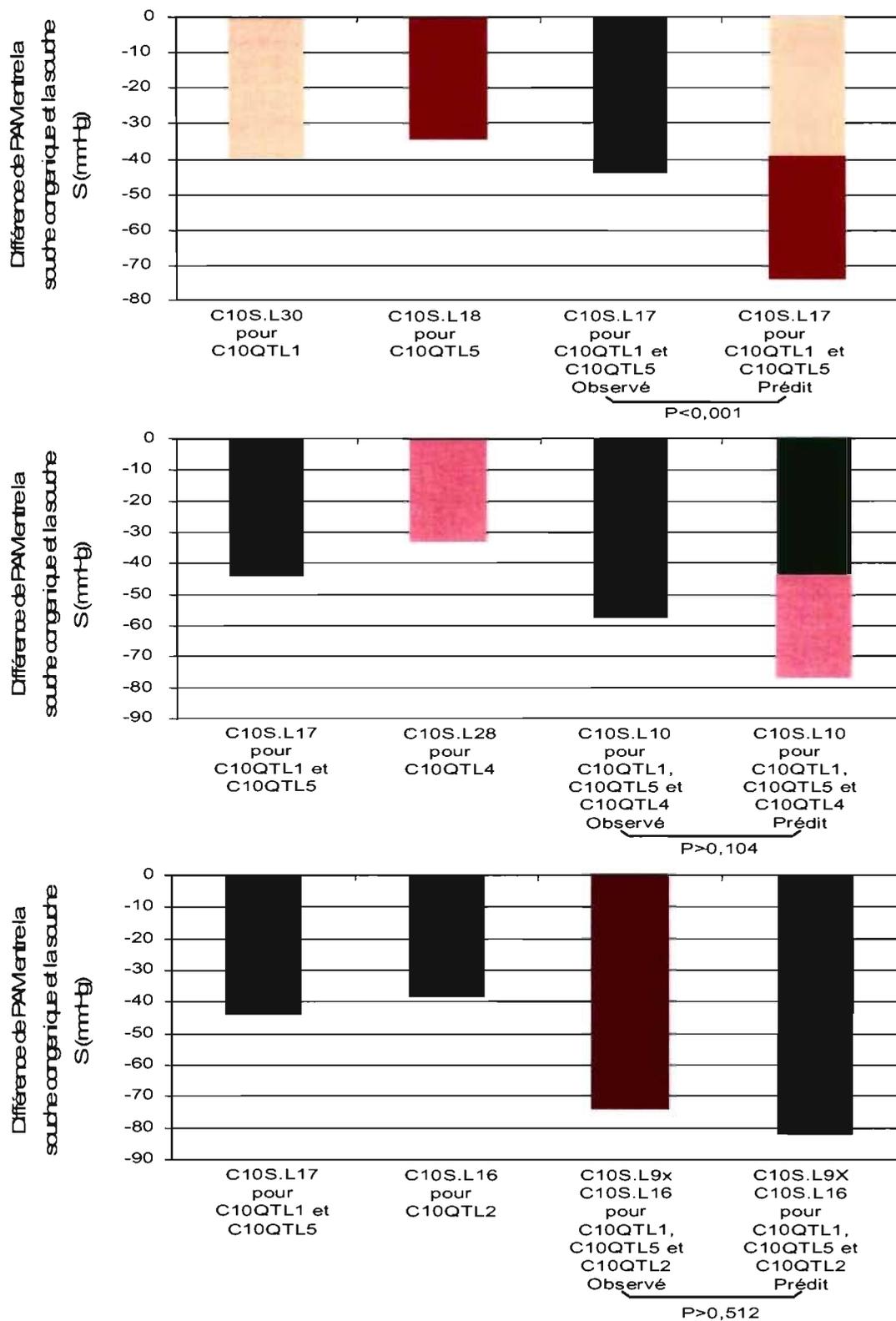


Figure 15 Interactions génique (partie 1). Les trois premières colonnes de chaque histogramme représentent la différence de PAM entre une souche congénique et la souche S. La dernière colonne représente la différence de PAM prédite lors de l'ajout de ≥ 2 QTLs.

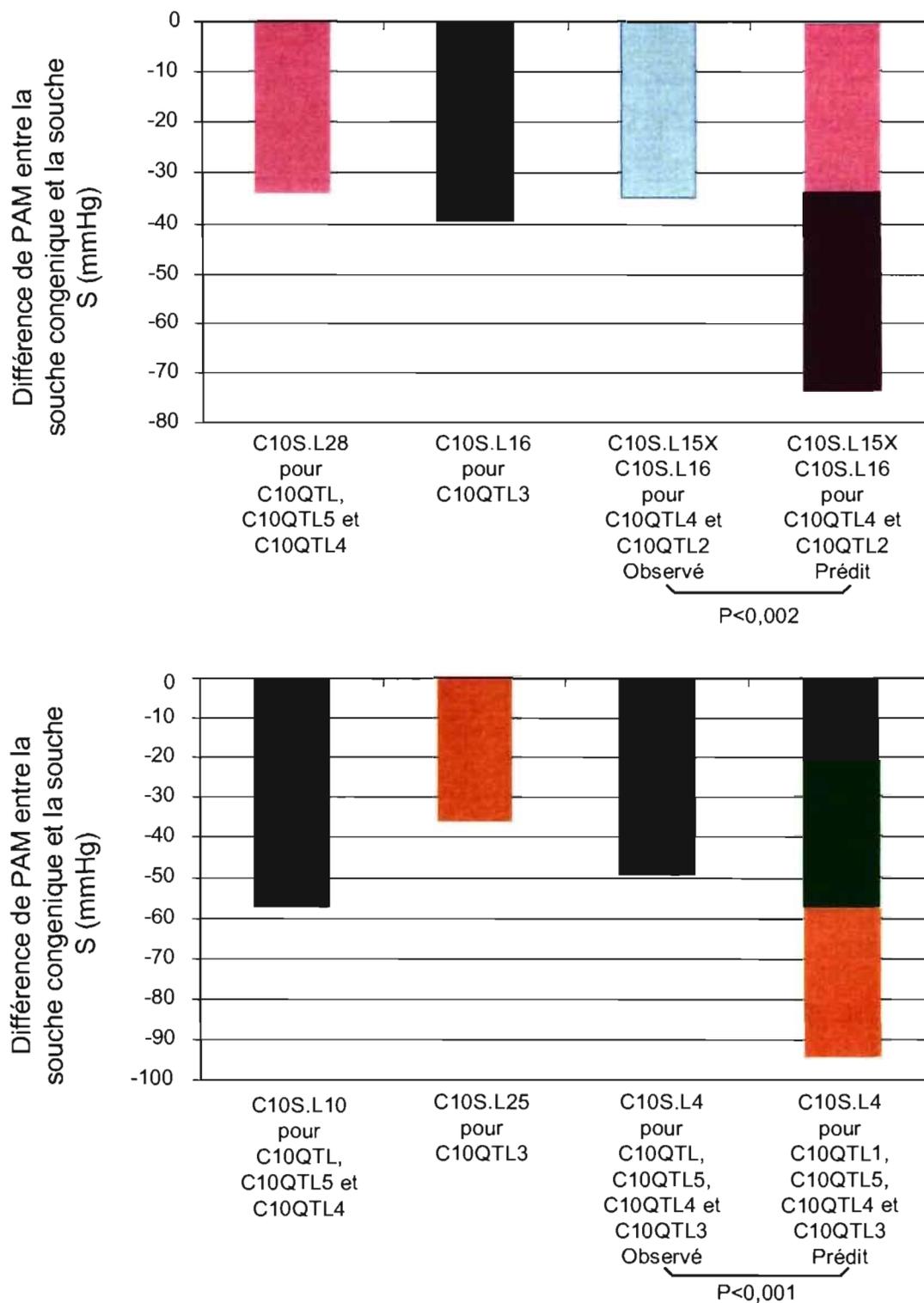


Figure 16 Interactions génique (partie 2). Les trois premières colonnes de chaque histogramme représentent la différence de PAM entre une souche congénique et la souche S. La dernière colonne représente la différence de PAM prédite lors de l'ajout de ≥ 2 QTLs.

Discussion

Chapitre 10 – Localisation de cinq QTLs sur le chromosome 10

La cartographie fine des QTLs de la pression sanguine a permis de diminuer les intervalles des quatre QTLs précédemment localisés et de localiser un cinquième QTL. Pour ce faire, des sous-souches congéniques ont été développées (Figure 7).

La sous-souche C10S.L28 a été élaborée afin de réduire la région du C10QTL4. Elle est significativement différente de la souche S ($P < 0,001$). Ceci permet de réduire la taille de l'intervalle de 820 kb à 136 kb. L'intervalle du C10QTL4, défini par cette souche, permet de diminuer la pression sanguine de 33 mm Hg, par rapport à la souche S. Les sous-souches C10S.L15 et C10S.L27 couvrent aussi la région du C10QTL4, mais dans un intervalle plus grand. Elles sont aussi significativement différentes de la souche S ($P < 0,001$ et $P < 0,011$ respectivement). Puisque aucune souche ne couvre uniquement l'intervalle compris entre les marqueurs D10Chm229 et D10Chm255, il est impossible de conclure qu'aucun autre QTL n'est présent dans cette région.

De même, la souche C10S.L30 a été construite dans le but de réduire l'intervalle C10QTL1. Elle est significativement différente de la souche S ($P < 0,001$) et permet de réduire la région du C10QTL1 d'une taille de 1,17 Mb à 570 kb. L'intervalle du C10QTL1 défini par cette souche permet de diminuer la pression sanguine de 55 mm Hg, par rapport à la souche S. Cet intervalle est aussi couvert par les souches C10S.L20 ($P < 0,001$), C10S.L17 ($P < 0,002$) et C10S.L9 ($P < 0,003$). Aucune souche négative ne couvre l'intervalle compris entre les marqueurs D10Chm212 et D10Chm4. En conséquence, la présence d'un QTL dans cette région ne peut pas être exclue.

La souche C10S.L17 est significativement différente de la souche S. La sous-souche C10S.L18 a été construite afin de déterminer si l'intervalle compris entre les marqueurs D10Chm197 et D10Chm216 comprenait un QTL de la pression sanguine. C10S.L18 est significativement différente de la souche S ($P < 0,001$). Elle définit donc

la région du C10QTL5 qui permet de diminuer la pression sanguine de 34 mm Hg, par rapport à la souche S.

Les sous-souches C10S.L31, C10S.L32, C10S.L12 et C10S.L25 ont été construites pour diminuer la région du C10QTL3 comprise dans la souche C10S.L11. Les souches-souches C10S.L31 et C10S.L32 ne sont pas significativement différentes de la souche S ($P>0,170$ et $P>0,149$ respectivement). En conséquence, C10QTL3 n'est pas localisé dans la région située entre les marqueurs D10Rat27 et D10Got110. La sous-souche C10S.L12 n'est, elle non plus, pas significativement différente de la souche S ($P>0,117$), alors que C10S.L25 est significativement différente de S ($P<0,002$). La région du C10QTL3 est donc comprise dans la sous-souche C10S.L25, entre les marqueurs D10Got112 et D10Chm154.

La souche C10S.L16 est significativement différente de la souche S ($P<0,001$) et contient donc un QTL de la pression sanguine. Les sous-souche C10S.L1 et C10S.L26 ont été créées pour étudier cette région. Elles sont toutes deux négatives ($P>0,279$ et $P>0,108$ respectivement). En conséquence, la région du C10QTL2 est comprise dans la souche C10S.L16, entre les marqueurs D10Chm14 et D10Chm276. Les gènes *Nos2*, *Eca*, et *Wnk4* ont déjà été exclus comme candidats pour la différence de pression sanguine entre les souche S et L^(148,149). La sous-souche C10S.L26 permet d'exclure un autre candidat, le gène *Cacng4*.

Chacune des cinq régions QTLs contient un nombre restreint de gènes et de Loci indéfinis. C10QTL4 en contient 17, alors que C10QTL3 n'en contient que deux. En raison de leur taille restreinte et du petit nombre de gènes qu'ils contiennent, la possibilité que l'un de ces intervalles possède plus d'un QTL est limitée. Cette réduction du nombre de candidats facilitera, sans aucun doute, l'identification des cinq QTLs.

Seulement trois des gènes localisés dans ces intervalles sont connus pour avoir une fonction en lien avec le système cardiovasculaire. Le gène *Bzrap1* est associé

aux benzodiazépines. Celles-ci causent une diminution de la résistance vasculaire systémique, une modeste réduction de la pression artérielle et une augmentation du rythme cardiaque⁽¹⁵⁰⁾. La protéine produite par le gène *Uncb45* agirait comme une chaperonne aidant le repliement de la myosine nécessaire pour la contraction des muscles squelettiques et cardiaques⁽¹⁵¹⁾. La protéine produite par le gène *VeZF1* est un facteur de transcription spécifique des cellules endothéliales. Elle régule l'expression de l'endothéline-1⁽¹⁵²⁾.

Plusieurs des gènes compris dans les intervalles C10QTL ont un lien avec le système immunitaire. Il existe de plus en plus d'évidences indiquant l'implication de ce système dans le développement de l'hypertension⁽¹⁵³⁻¹⁵⁸⁾. La myéloperoxydase est synthétisée par le gène *Mpo* durant la différenciation myéloïde. Elle est impliquée dans l'inflammation⁽¹⁵⁹⁾, l'artériosclérose⁽¹⁶⁰⁾ et les événements cardiovasculaires⁽¹⁶¹⁾. Les gènes de la famille schlafen (*Slfn*) sont connus pour jouer un rôle dans le développement des thymocytes⁽¹⁶²⁾. Plusieurs membres de cette famille sont présents dans l'intervalle C10QTL4. L'éosinophile peroxydase est codée par le gène *Epx*. Elle est relâchée par les éosinophiles à la surface des organismes pathogènes, pour en perturber la membrane cytoplasmique⁽¹⁶³⁾. La protéine codée par le gène *Cuedc1* contient un domaine CUE. Ce dernier est aussi présent dans deux autres protéines impliquées dans le signal de transduction induit par l'interleukine 1⁽¹⁶⁴⁾. L'expression du gène *Abca9* est induite durant la différenciation des monocytes⁽¹⁶⁵⁾.

Les autres gènes connus et contenus dans les intervalles C10QTL sont impliqués dans des fonctions diverses telles que le trafic intracellulaire, le cycle, la croissance et la différenciation cellulaire, ainsi que dans la structure et la réparation de l'ADN. On retrouve aussi des récepteurs olfactifs. À première vue, le rôle de ces gènes dans l'hypertension est peu probable. Cependant, il ne peut pas être exclu sans une analyse plus approfondie. De plus, les intervalles C10QTL contiennent de nombreux Loci dont la séquence complète et la fonction restent à définir. Il est possible qu'un de ces Loci ait un rôle à jouer dans le développement de l'hypertension.

De plus, ces intervalles sont homologues à des régions du CHROMOSOME 17 humain (Figure 17 à 19). Les homologues humains pourraient être directement criblés pour la détection de mutation, dans des études d'association sur des populations humaines⁽¹⁶⁶⁾. Puisque aucun des gènes contenus dans ces régions n'est connu pour influencer la pression sanguine, les homologues humains de ces éventuels QTLs pourraient fournir de nouvelles cibles thérapeutiques et de nouveaux outils de diagnostic pour l'hypertension humaine.

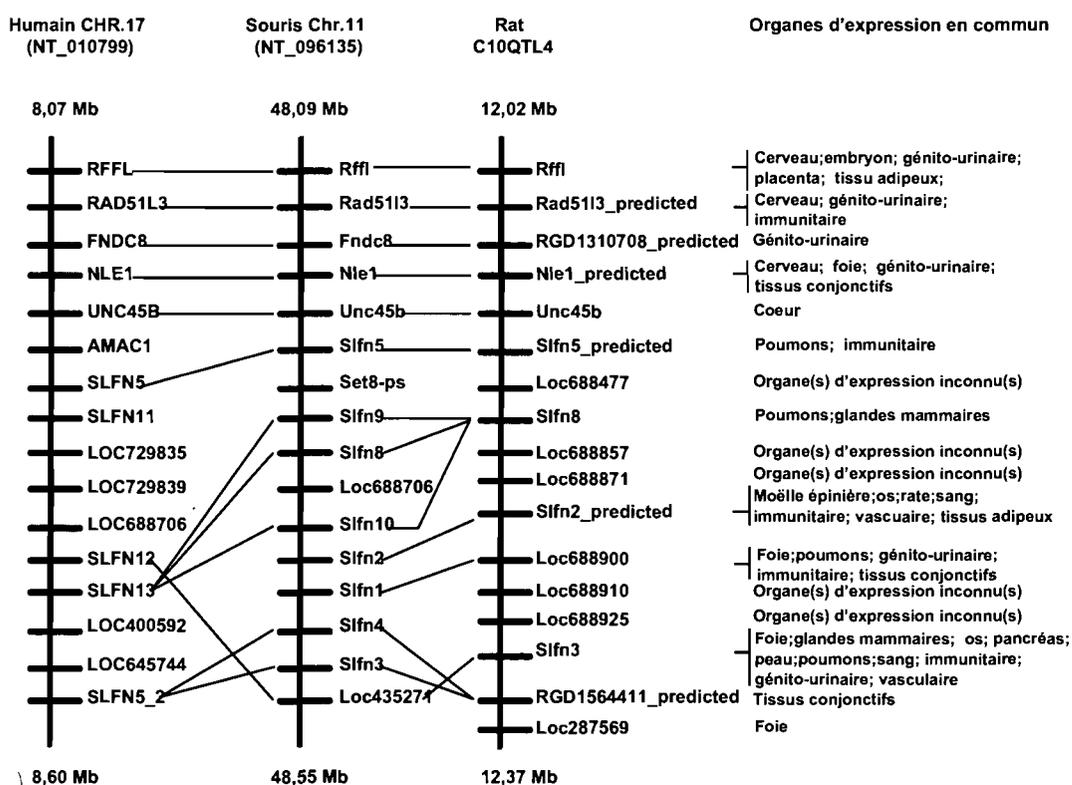


Figure 17 Gènes et Locs contenus dans C10QTL4. Pour chacun de ces gènes et Locs du rat, leurs homologues chez l'humain et la souris, ainsi que leurs organes d'expression ont été obtenus à partir des bases de données «gene» et «unigene» et du programme «Map viewer» de NCBI. Seul les organes d'expression qui sont en commun pour les trois espèces sont présentés. Pour chaque espèce, le chromosome, le contig et l'intervalle où se situe le QTL sont indiqués.

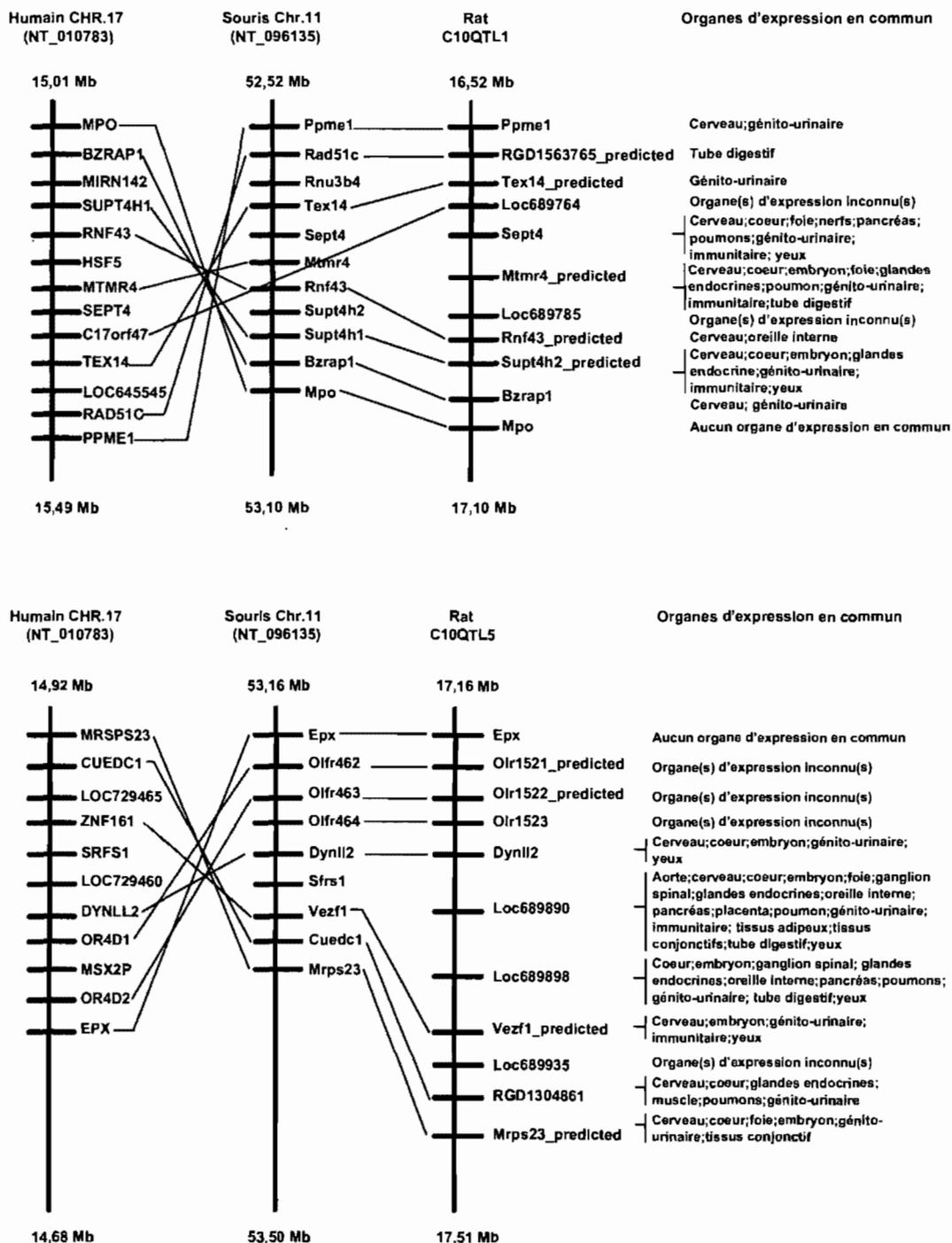


Figure 18 Gènes et Loci contenus dans C10QTL1 et C10QTL5. Pour chacun de ces gènes et Loci du rat, leurs homologues chez l'humain et la souris, ainsi que leurs organes d'expression ont été obtenus à partir des bases de données «gene» et «unigene» et du programme «Map viewer» de NCBI. Seul les organes d'expression qui sont en commun pour les trois espèces sont présentés. Pour chaque espèce, le chromosome, le contig et l'intervalle où se situe le QTL sont indiqués.

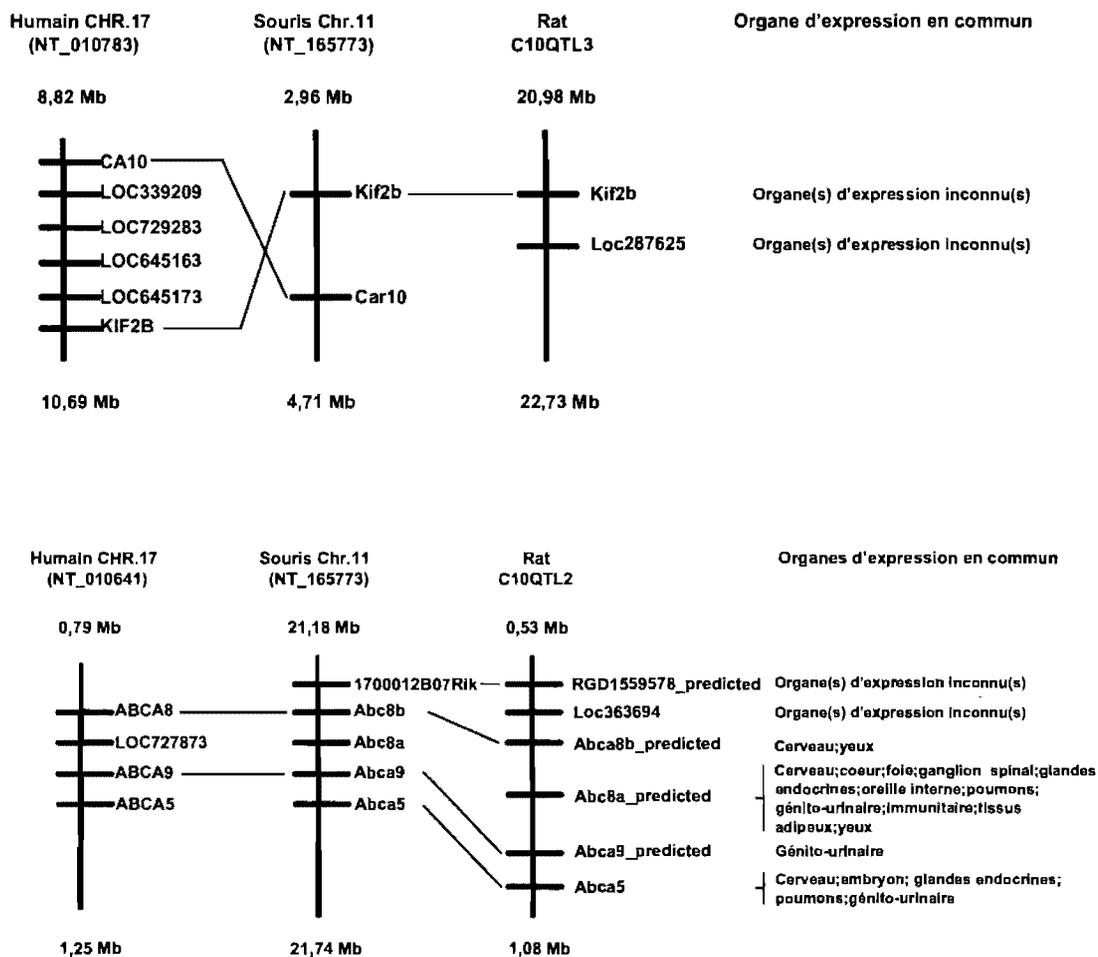


Figure 19 Gènes et Locs contenus dans C10QTL3 et C10QTL2. Pour chacun de ces gènes et Locs du rat, leurs homologues chez l'humain et la souris, ainsi que leurs organes d'expression ont été obtenus à partir des bases de données «gene» et «unigene» et du programme «Map viewer» de NCBI. Seul les organes d'expression qui sont en commun pour les trois espèces sont présentés. Pour chaque espèce, le chromosome, le contig et l'intervalle où se situe le QTL sont indiqués.

Chapitre 11- Caractère monogénique des QTLs du chromosome 10

Il est souvent admis qu'un trait quantitatif, comme la pression sanguine, est modulé par l'effet cumulatif de plusieurs QTLs, chacun d'entre eux ayant un effet mineur⁽¹⁶⁷⁻¹⁶⁹⁾. Cependant, les résultats obtenus, pour les cinq QTLs du chromosome 10, suggèrent que la pression sanguine est un trait polygénique, mais que chaque QTL peut agir de manière indépendante, comme le ferait un trait monogénique.

Chacune des cinq régions QTLs étudiées est capable de diminuer, à elle seule, la pression sanguine d'une souche congénique. Par exemple, la sous-souche C10S.L28, définissant l'intervalle C10QTL4, diminue la pression sanguine de 33 mm Hg, par rapport à la souche S. En assumant que l'intervalle défini par cette souche ne contient qu'un seul QTL, C10QTL4, sans l'implication d'aucun autre QTL, est capable d'influencer la pression sanguine de façon majeure. Comme pour un trait monogénique, aucune combinaison avec un autre QTL n'est nécessaire pour causer une variation du phénotype.

L'étude de l'interaction allélique supporte aussi le concept de QTLs agissant comme un trait monogénique. Les souches hétérozygotes pour les C10QTL1, C10QTL2, C10QTL3 et C10QTL4 montrent qu'une seule copie de l'allèle Lewis est suffisante pour diminuer la pression artérielle au même niveau que l'homozygote ayant deux copies de cet allèle. En assumant qu'un seul QTL est présent dans l'intervalle défini par chacune des souches congéniques, les allèles L de chacun de ces QTLs agissent de manière dominante, alors que les allèles S agissent de manière récessive. Ceci suggère que le produit des allèles L de chacun de ces QTLs conduit à la diminution de la pression sanguine. Pour ces QTLs, les allèles «Dahl salt-sensitive» semblent montrer une perte de fonction, alors que les allèles Lewis seraient le phénotype naturel.

Basé sur l'hypothèse que la dominance observée résulte d'une perte de fonction, des mutations ayant cet effet pourront être recherchées parmi les gènes compris dans les régions QTLs entre les souches contrastantes.

Chapitre 12 – Interactions et organisation des cinq QTLs du chromosome 10

Il a été démontré précédemment que chacun des cinq QTLs du chromosome 10 est capable d'influencer la pression sanguine, sans combinaison avec un autre QTL. Cependant, aucun de ces QTLs n'est capable, à lui seul, de diminuer la pression au même niveau que la souche L. Il est donc logique de croire que l'effet additif de tous les QTLs permet d'obtenir le phénotype final. Cependant, l'addition des effets de chacun des cinq QTLs du chromosome 10 dépasse largement la différence de pression entre les souches S et L. Cette différence est de 87 mm Hg, alors que l'addition des différences de pression induites par chacun des cinq QTLs est de 196 mm Hg (Tableau VI). Il apparaît donc que ces QTLs n'interagissent pas uniquement de manière additive. Si tel était le cas, l'addition des effets de chacun des cinq QTLs ne devrait pas excéder la différence de pression entre les souches S et L. L'étude de l'interaction entre ces cinq QTLs montre, effectivement, la présence de mécanismes d'épistasie et de mécanismes d'additivité (Figures 15 et 16).

Les mécanismes d'épistasie permettent d'expliquer la présence de plusieurs QTLs ayant un fort impacte sur la pression sanguine. L'analyse des résultats de l'étude d'interaction génique permet de proposer un mode d'organisation entre ces QTLs. Un schéma résumant cette organisation, basé sur le raisonnement qui suit, est présenté à la Figure 20. C10QTL1 et C10QTL5 interagissent de manière épistatique. C'est-à-dire que l'effet d'un des QTLs masque l'effet de l'autre QTL. Ces deux QTLs pourraient être membre d'une même voie de régulation. Chacun d'entre eux jouant un rôle dans une des étapes séquentielles menant à la régulation de la pression artérielle par cette voie. Le défaut de n'importe quelle de ces étapes aurait pour effet de rendre la voie entière défectueuse. Ainsi, le défaut de l'un, ou des deux, QTLs entraînerait le même phénotype. C10QTL4 a un effet additif à ces deux QTLs. Il appartiendrait à une autre voie de régulation de la pression sanguine, et ces deux voies auraient un effet additif sur la pression sanguine. De même, C10QTL2 a un effet additif à ceux des C10QTL1 et 5. Il ferait donc partie d'une voie de régulation différente de ces derniers. L'étude de l'interaction entre C10QTL2 et C10QTL4 a permis de

déterminer que ces deux QTLs interagissent de manière épistatique. Ils feraient donc partie de la même voie de régulation. Finalement, C10QTL3 est épistatique à la combinaison des C10QTL1, 5 et 4. C10QTL3 n'appartient donc pas à une troisième voie de régulation. Cependant, il est impossible de déterminer à laquelle des deux premières voies il appartient. Pour se faire, il faudrait étudier la combinaison du C10QTL3 avec C10QTL1 et C10QTL5 et/ou la combinaison du C10QTL3 avec C10QTL2 et C10QTL4.

Dans cette étude, la souche C10S.L4 a été utilisée pour étudier l'interaction entre les C10QTL1, 4 et 5. Chez cette souche, la pression sanguine n'a été mesurée que durant six jours. Cependant, pour cette souche, la durée de mesure n'importe pas puisque la pression était déjà significativement différente de la souche S après quelques jours⁽¹²³⁾.

La présence d'autres QTLs sur le chromosome 10 du rat Dahl n'est pas exclue. De même, d'autres QTLs ont été identifiés sur d'autres chromosomes du rat Dahl^(89,113,130,148). Des études d'interaction devraient permettre de déterminer leur organisation. La présence d'autres voies de régulation n'est donc pas exclue. Les résultats obtenus lors de cette étude d'interaction ne permettent pas de déterminer l'ordre des QTLs dans les groupes épistatiques.

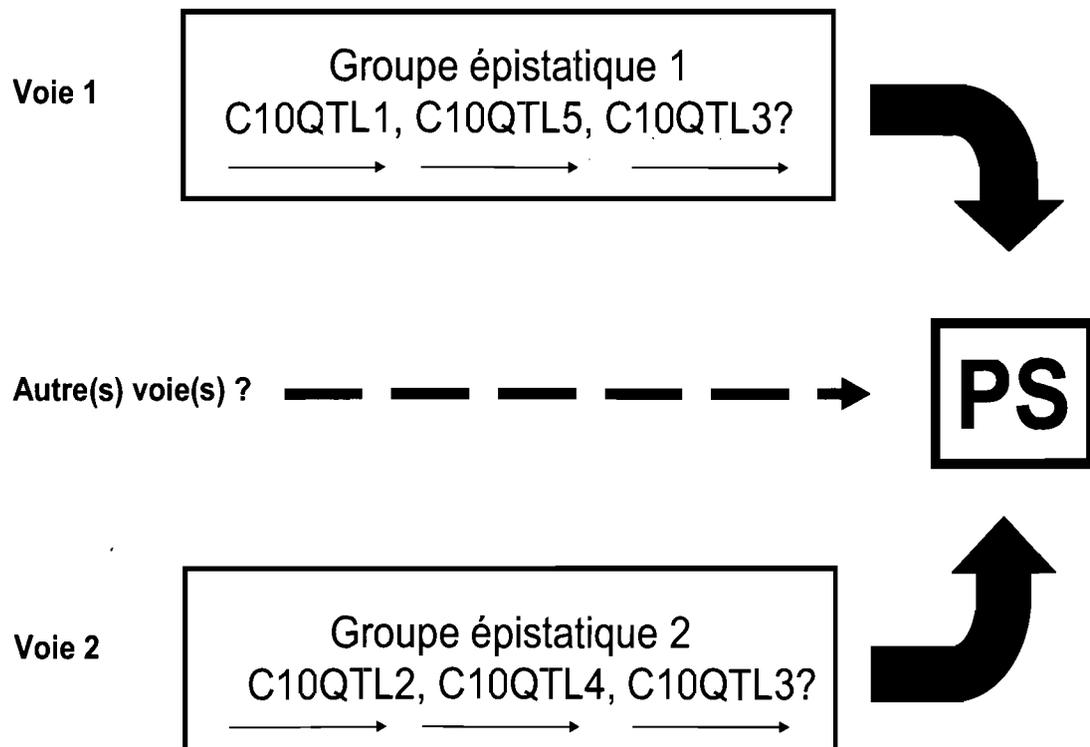


Figure 20 Schéma proposé du mode d'organisation entre les QTLs de la pression sanguine, PS= pression sanguine.

Ces études d'interaction QTL-QTL apportent des éléments importants pour la compréhension de l'hypertension essentielle chez l'humain. Plusieurs marqueurs génétiques ont été associés à l'hypertension dans une population humaine et non dans une autre^(139,140,170-174). Ce phénomène peut s'expliquer par la spécificité génétique des populations humaines, non seulement au niveau des QTLs en cause, mais aussi, au niveau de leurs modes d'interaction. Par exemple, dans une population donnée, le défaut d'un QTL au début de la voie de régulation peut camoufler celui d'un autre QTL dans cette même voie^(89,148). En conséquence, dans les études humaines, lors de l'analyse de la fonction d'un gène associé à l'hypertension, l'absence d'effet peut être attribuable au défaut d'un autre gène appartenant à la même voie de régulation. Dans ce cas, la séparation et la combinaison des QTLs sont nécessaires afin d'élucider la relation qui existe entre ceux-ci.

Conclusion et perspectives

Cette étude a permis de réduire chacun des intervalles contenant un des quatre QTLs de la pression sanguine précédemment localisés sur le chromosome 10 du rat «Dahl salt-sensitive». Ce faisant, un cinquième QTL a pu être localisé. Chacune des régions QTLs identifiées contient, au plus, 17 gènes. Beaucoup de gènes ayant une fonction dans le système immunitaire sont contenus dans ces régions. La plupart des gènes de ces régions ont un homologue humain et, aucun n'est connu pour jouer un rôle dans le contrôle de la pression sanguine. En conséquence, ces QTLs pourraient être de nouveaux gènes impliqués dans la régulation de la pression sanguine.

Bien que la pression sanguine soit un trait polygénique, les résultats obtenus démontrent que chaque QTL peut agir de manière indépendante, comme le ferait un trait monogénique. De plus, ces QTLs interagissent *via* des mécanismes d'épistasie et d'additivité. Deux voies de régulation de la pression sanguine ont ainsi pu être suggérées.

Afin de raffiner la localisation de ces QTLs et de réduire le nombre de gènes candidats à analyser, il faudra construire de nouvelles sous-souches. Les gènes de ces régions devront être analysés afin de trouver des différences d'expression et/ou de séquences codantes et/ou régulatrices entre les souches S et L. Des animaux transgéniques et/ou «knock-out» pour les gènes montrant ces différences pourront aussi être développés. L'analyse de la pression artérielle de ces animaux permettra de confirmer ou d'invalidier le rôle du gène candidat dans le développement de l'hypertension. Le rôle des gènes candidats devra aussi être analysé dans la population humaine.

De plus, des souches multiples congéniques devront être développées dans le but d'élucider les interactions qui ont lieu, non seulement entre les QTLs du chromosome 10 du rat S, mais aussi entre ces QTLs et ceux trouvés sur les autres chromosomes.

La découverte de nouveaux gènes contribuant à la régulation de la pression sanguine, ainsi que la connaissance de leurs modes de fonctionnement, permettront de mieux comprendre les mécanismes menant à l'hypertension.

Bibliographie

1. Tortora G.J., Grabowski R.S., and Parent J.-C., *Principes d'anatomie et de physiologie*, 1994, Anjou.
2. Graham L.P., *Chimie pharmaceutique*, traduction de la 2e édition anglaise par Depovere P., 2002, Paris.
3. Esler M., *Manual of hypertension*, Mancia I.G., Chalmers J., Julius S., Saruta T., Weber M., Ferrari A., Wilkinson I. (eds), Harcourt Publisher Limited, 2002, London, pp. 97-110.
4. Grassi G., *Manual of hypertension*, Mancia I.G., Chalmers J., Julius S., Saruta T., Weber M., Ferrari A., Wilkinson I. (eds), Harcourt Publisher Limited, 2002, London, pp. 217-230.
5. Nicholls M.G., Richards A.M., *Manual of hypertension*, Mancia I.G., Chalmers J., Julius S., Saruta T., Weber M., Ferrari A., Wilkinson I. (eds), Harcourt Publisher Limited, (2002) London, pp. 77-95.
6. Timmermans P.B., Wong P.C., Chiu A.T., Herblin W.F., Benfield P., Carini D.J., Lee R.J., Wexler R.R., Saye J.A., and Smith R.D., *Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists*, *Pharmacol.Rev.*, 45, 1993, pp. 205-251.
7. Iwai N., Inagami T., *Identification of two subtypes in the rat type I angiotensin II receptor*, *FEBS Lett.*, 298, 1992, pp. 257-260.
8. Sasamura H., Hein L., Krieger J.E., Pratt R.E., Kobilka B.K., and Dzau V.J., *Cloning, characterization, and expression of two angiotensin receptor (AT-1) isoforms from the mouse genome*, *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 185, 1992, pp. 253-259.
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, 1994, pp. E260-E267.
10. Kakar S.S., Sellers J.C., Devor D.C., Musgrove L.C., and Neill J.D., *Angiotensin II type-1 receptor subtype cDNAs: differential tissue expression and hormonal regulation*, *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, 183, 1992, pp. 1090-1096.
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, 1997, pp. 1258-1264.

12. Ito M., Oliverio M.I., Mannon P.J., Best C.F., Maeda N., Smithies O., and Coffman T.M., *Regulation of blood pressure by the type 1A angiotensin II receptor gene*, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A, 92, 1995, pp. 3521-3525.
13. Chen X., Li W., 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, 272, 1997, pp. F299-F304.
14. Drouin D., Milot A., *HYPERTENSION, Guide thérapeutique*, 2007, Montréal.
15. Ferro A., *L'endothélium simplifié, Des connaissances fondamentales aux applications cliniques*, 2003, Elsevier Canada, pp1-106.
16. Pessina A.C., Casiglia E., *Manual of hypertension*, Mancia I.G., Chalmers J., Julius S., Saruta T., Weber M., Ferrari A., Wilkinson I. (eds), Harcourt Publisher Limited, (2002) London, pp. 411-424.
17. Rastaldo R., Pagliaro P., Cappello S., Penna C., Mancardi D., Westerhof N., and Losano G., *Nitric oxide and cardiac function*, Life Sci., 81, 2007, pp. 779-793.
18. Rapp J.P., *Hypertension, Physiopathology and treatment*. Genest In J., Kuchel O., Hamet P., and Cantin M. (eds), McGraw-Hill Book Co., New York, 1983, pp. 582-598.
19. Beaudry J.-R., *Génétiq ue générale*, In Décarie éditeur inc, Montréal, 1985, pp. 131-139.
20. *Working Group Report on primary Prevention of hypertension: National High Blood Pressure Education Program*. Bethesda, MD National Institutes of Health National Heart Lung and Blood Institute, 1993, 93-2669.
21. Dannenberg A.L., Garrison R.J., and Kannel W.B., *Incidence of hypertension in the Framingham Study*, Am.J.Public Health, 78, 1988, pp. 676-679.
22. Kannel W.B., Garrison R.J., and Dannenberg A.L., *Secular blood pressure trends in normotensive persons: the Framingham Study*. Am.Heart J., 125, 1993, pp. 1154-1158.
23. *The Treatment of Mild Hypertension Research Group. TOMHS: a randomized, placebo-controlled trial of a nutritional-hygenic regimen along with various drug monothérapies*. Arch.Intern.Med. 151, 1413-1423. 1991.
24. Page L.B., *Epidemiologic evidence on the etiology of human hypertension and its possible prevention*, Am.Heart J., 91, 1976, pp. 527-534.

25. 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, 1999, pp. 1221-1227.
26. Kannel W.B., *Manual of hypertension*, Mancia I.G., Chalmers J., Julius S., Saruta T., Weber M., Ferrari A., Wilkinson I. (eds), Harcourt Publisher Limited, 2002, London, pp. 1-19.
27. Kannel W., Wilson P., *Cardiovascular Risk Factors and Hypertension - Hypertension Primer - The Essentials of High Blood Pressure-*. Izzo J.L. (eds) Lippincott Williams & Wilkins, 2003, pp.1-496.
28. Paizis K., Phillips P.A., Prichard B.N.C., Cruickshank J.M., Meredith P.A., Clement D.L., Reid J.L., van Zwieten P.A., *Manual of hypertension*, Mancia I.G., Chalmers J., Julius S., Saruta T., Weber M., Ferrari A., Wilkinson I. (eds), Harcourt Publisher Limited, 2002, London, pp.305-424.
29. Flack J.M., *Epidemiology and unmet needs in hypertension*, J.Manag.Care Pharm., 13, 2007, pp. 2-8.
30. Semplicini A., Monari A., *Manual of hypertension*, Mancia I.G., Chalmers J., Julius S., Saruta T., Weber M., Ferrari A., Wilkinson I. (eds), Harcourt Publisher Limited, 2002, London, pp. 111-129.
31. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., and Walter P., *Molecular biology of the cell*, Garland Science Taylor & Francis group, New York, 2002, pp. 1-1464.
32. Fang Y., Mu J.J., He L.C., Wang S.C., and Liu Z.Q., *Salt loading on plasma asymmetrical dimethylarginine and the protective role of potassium supplement in normotensive salt-sensitive asians*, Hypertension, 48, 2006, pp. 724-729.
33. Haddy F.J., Vanhoutte P.M., and Feletou M., *Role of potassium in regulating blood flow and blood pressure*, Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol, 290, 2006, pp. R546-R552.
34. Moreno E., Tovar-Palacio C., de los H.P., Guzman B., Bobadilla N.A., Vazquez N., Riccardi D., Poch E., and Gamba G., *A single nucleotide polymorphism alters the activity of the renal Na⁺:Cl⁻ cotransporter and reveals a role for transmembrane segment 4 in chloride and thiazide affinity*, J.Biol.Chem., 279, 2004, pp. 16553-16560.
35. Morris R.C. Jr., Schmidlin O., Frassetto L.A., and Sebastian A., *Relationship and interaction between sodium and potassium*, J.Am.Coll.Nutr., 25, 2006, pp. 262S-270S.

36. Gormley K., Dong Y., and Sagnella G.A., *Regulation of the epithelial sodium channel by accessory proteins*, *Biochem.J.*, 371, 2003, pp. 1-14.
37. de Wardener H.E., *The primary role of the kidney and salt intake in the aetiology of essential hypertension: Part II*, *Clin.Sci.,London*, 79, 1990, pp. 289-297.
38. Laughery M.D., Clifford R.J., Chi Y., and Kaplan J.H., *Selective basolateral localization of overexpressed Na-K-ATPase beta1- and beta2- subunits is disrupted by butyrate treatment of MDCK cells*, *Am.J.Physiol Renal Physiol*, 292, 2007, pp. F1718-F1725.
39. Blaustein M.P., *Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation, and hypertension: a reassessment and a hypothesis*, *Am.J.Physiol*, 232, 1977, pp. C165-C173.
40. Hamlyn J.M., Ringel R., Schaeffer J., Levinson P.D., Hamilton B.P., Kowarski A.A., and Blaustein M.P., *A circulating inhibitor of (Na⁺ K⁺)ATPase associated with essential hypertension*, *Nature*, 300, 1982, pp. 650-652.
41. Hasegawa T., Masugi F., Ogihara T., and Kumahara Y., *Increase in plasma ouabainlike inhibitor of Na⁺, K⁺-ATPase with high sodium intake in patients with essential hypertension*, *J.Clin.Hypertens.*, 3, 1987, pp. 419-429.
42. Penner S.B., Campbell N.R., Chockalingam A., Zarnke K., and Van Vliet B., *Dietary sodium and cardiovascular outcomes: a rational approach*, *Can.J.Cardiol.*, 23, 2007, pp. 567-572.
43. Ferrari P., Torielli L., Ferrandi M., Padoani G., Duzzi L., Florio M., Conti F., Melloni P., Vesci L., Corsico N., and Bianchi G., *PST2238: a new antihypertensive compound that antagonizes the long-term pressor effect of ouabain*, *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 285, 1998, pp. 83-94.
44. 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 Ca²⁺ entry via Na⁺/Ca²⁺ exchanger type-1 in vascular smooth muscle*, *Nat.Med.*, 10, 2004, pp. 1193-1199.
45. Whitworth J.A., *Manual of hypertension*, Mancia I.G., Chalmers J., Julius S., Saruta T., Weber M., Ferrari A., Wilkinson I. (eds), Harcourt Publisher Limited, 2002, London, pp. 231-245.
46. Hamet P., Pausova Z., Tremblay J., and Deng A.Y., *Manual of hypertension*, Mancia I.G., Chalmers J., Julius S., Saruta T., Weber M., Ferrari A., Wilkinson I. (eds), Harcourt Publisher Limited, 2002, London, pp. 49-75.

47. 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*, *Nat.Genet.*, 11, 1995, pp. 76-82.
48. Shimkets R.A., Warnock D.G., Bositis C.M., Nelson-Williams C., Hansson J.H., Schambelan M., Gill J.R. Jr., Ulick S., Milora R.V., Findling J.W., *Liddle's syndrome: heritable human hypertension caused by mutations in the beta subunit of the epithelial sodium channel*. *Cell*, 79, 1994, pp. 407-414.
49. Lifton R.P., *Molecular genetics of human blood pressure variation*. *Science*, 272, 1996, pp. 676-680.
50. Hamet P., Pausova Z., Adarichev V., Adaricheva K., and Tremblay J., *Hypertension: genes and environment*, *J.Hypertens*, 16, 1998, pp. 397-418.
51. Williams S.S., *Advances in genetic hypertension*, *Curr.Opin.Pediatr.*, 19, 2007, pp. 192-198.
52. Hamet P., Pausova Z., Adarichev V., Adaricheva K., and Tremblay J., *Hypertension: genes and environment*, *J.Hypertens.*, 16, 1998, pp. 397-418.
53. Biron P., Mongeau J.G., *Familial aggregation of blood pressure and its components*, *Pediatr.Clin.North Am.*, 25, 1978, pp. 29-33.
54. Hunt S.C., Williams R.R., and Barlow G.K., *A comparison of positive family history definitions for defining risk of future disease*, *J.Chronic.Dis.*, 39, 1986, pp. 809-821.
55. Wada K., Tamakoshi K., Yatsuya H., Otsuka R., Murata C., Zhang H., Takefuji S., Matsushita K., Sugiura K., and Toyoshima H., *Association between parental histories of hypertension, diabetes and dyslipidemia and the clustering of these disorders in offspring*, *Prev.Med.*, 42, 2006, pp. 358-363.
56. Biron P., Mongeau J.G., and Bertrand D., *Familial aggregation of blood pressure in 558 adopted children*, *Can.Med.Assoc.J.*, 115, 1976, pp. 773-774.
57. Andre J.L., Deschamps J.P., and Gueguen R., *Familial resemblance of blood pressure and body weight*, *Clin.Exp.Hypertens.A*, 8, 1986, pp. 661-667.
58. 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.A*, 8, 1986, pp. 653-660.
59. Feinleib M., Garrison R.J., Fabsitz 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, 1977, pp. 284-285.

60. *The sixth report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure*, Arch.Intern.Med., 157, 1997, pp. 2413-2446.
61. Whelton P.K., He J., Appel L.J., Cutler J.A., Havas S., Kotchen T.A., Roccella E.J., Stout R., Vallbona C., Winston M.C., and Karimbakas J., *Primary prevention of hypertension: clinical and public health advisory from The National High Blood Pressure Education Program*, JAMA, 288, 2002, pp. 1882-1888.
62. Karanja N.M., Obarzanek E., Lin P.H., McCullough M.L., Phillips K.M., Swain J.F., Champagne C.M., and Hoben K.P., *Descriptive characteristics of the dietary patterns used in the Dietary Approaches to Stop Hypertension Trial. DASH Collaborative Research Group*, J.Am.Diet.Assoc., 99, 1999, pp. S19-S27.
63. Williams R.R., Hunt S.C., Hasstedt S.J., Hopkins P.N., Wu L.L., Berry T.D., Stults B.M., Barlow G.K., Schumacher M.C., Lifton R.P., *Are there interactions and relations between genetic and environmental factors predisposing to high blood pressure?* Hypertension, 18, 1991, pp. 129-137.
64. Lifton R.P., Gharavi A.G., and Geller D.S., *Molecular mechanisms of human hypertension*, Cell, 104, 2001, pp. 545-556.
65. Lifton R.P., Dluhy R.G., Powers M., Rich G.M., Gutkin M., Fallo F., Gill J.R. Jr., Feld L., Ganguly A., Laidlaw J.C., *Hereditary hypertension caused by chimaeric gene duplications and ectopic expression of aldosterone synthase*, Nat.Genet., 2, 1992, pp. 66-74.
66. Cohen E., Wheat M.E., Swiderski D.M., and Charney P., *Hypertension : pathophysiology, diagnosis and management*, Laragh In J.H., Brenner B.M. (eds), Raven Press Ltd, New York, 1995, pp. 159-169.
67. Page L.B., Damon A., and Moellering R.C. Jr., *Antecedents of cardiovascular disease in six Solomon Islands societies*, Circulation, 49, 1974, pp. 1132-1146.
68. Whelton P.K., He J., Appel L.J., Cutler J.A., Havas S., Kotchen T.A., Roccella E.J., Stout R., Vallbona C., Winston M.C., and Karimbakas J., *Primary prevention of hypertension: clinical and public health advisory from The National High Blood Pressure Education Program*, JAMA, 288, v, pp. 1882-1888.
69. Weinberger M.H., *Salt sensitivity of blood pressure in humans*, Hypertension, 27, 1996, pp. 481-490.

70. Weinberger M.H., *Salt sensitivity: does it play an important role in the pathogenesis and treatment of hypertension?* *Curr.Opin.Nephrol.Hypertens.*, 5, 1996, pp. 205-208.
71. Falkner B., Kushner H., *Interaction of sodium sensitivity and stress in young adults*, *Hypertension*, 17, 1991, pp. 1162-1165.
72. Sullivan J.M., *Salt sensitivity. Definition, conception, methodology, and long-term issues*, *Hypertension*, 17, 1991, pp. 161-168.
73. Weinberger M.H., Miller J.Z., Luft F.C., Grim C.E., and Fineberg N.S., *Definitions and characteristics of sodium sensitivity and blood pressure resistance*, *Hypertension*, 8, 1986, pp. 1127-1134.
74. Ishibashi K., Oshima T., Matsuura H., Watanabe M., Ishida M., Ishida T., Ozono R., Kajiyama G., and Kanbe M., *Effects of age and sex on sodium chloride sensitivity: association with plasma renin activity*, *Clin.Nephrol.*, 42, 1994, pp. 376-380.
75. Osanai T., Kanazawa T., Yokono Y., Uemura T., Okuguchi T., and Onodera K., *Effect of aging on sensitivity of blood pressure to salt*, *Nippon Ronen Igakkai Zasshi*, 30, 1993, pp. 30-34.
76. Overlack A., Ruppert M., Kolloch R., Gobel B., Kraft K., Diehl J., Schmitt W., and Stumpe K.O., *Divergent hemodynamic and hormonal responses to varying salt intake in normotensive subjects*, *Hypertension*, 22, 1993, pp. 331-338.
77. Kawasaki T., Itoh K., and Cugini P., *Influence of reappportionment of daily salt intake on circadian blood pressure pattern in normotensive subjects* *J.Nutr.Sci.Vitaminol*, Tokyo, 40, 1994, pp. 459-466.
78. Hou R., Liu Z., Liu J., Liu W., Wang Z., and Geng T., *The circadian rhythm of blood pressure and the effect of salt intake in salt-sensitive subjects*, *Chin Med.J.England*, 113, 2000, pp. 22-26.
79. 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, 1992, pp. 1033-1044.
80. Whyte H.M., *Blood pressure and obesity*, *Circulation*, 19, 1956, pp. 511-516.
81. Kannel W.B., Brand N., Skinner J.J. Jr., Dawber T.R., and McNamara P.M., *The relation of adiposity to blood pressure and development of hypertension. The Framingham study*. *Ann.Intern.Med.*, 67, 1967, pp. 48-59.

82. Krieger D.R., Landsberg L., *Hypertension : pathophysiology, diagnosis and management*, Laragh In J.H., Brenner B.M. (eds), Raven Press Ltd, New York, 1995, pp. 2367-2388.
83. Kanai H., Matsuzawa Y., Kotani K., Keno Y., Kobatake T., Nagai Y., Fujioka S., Tokunaga K., and Tarui S., *Close correlation of intra-abdominal fat accumulation to hypertension in obese women*, *Hypertension*, 16, 1990, pp. 484-490.
84. Widgren B.R., Wikstrand J., Berglund G., and Andersson O.K., *Increased response to physical and mental stress in men with hypertensive parents*. *Hypertension*, 20, 1992, pp. 606-611.
85. Folkow B., *Mental stress and its importance for cardiovascular disorders; physiological aspects, "from-mice-to-man"*. *Scand.Cardiovasc.J.*, 35, 2001, pp. 163-172.
86. Jennings G., Nelson L., Nestel P., Esler M., Korner P., Burton D., and Bazelmans J., *The effects of changes in physical activity on major cardiovascular risk factors, hemodynamics, sympathetic function, and glucose utilization in man: a controlled study of four levels of activity*, *Circulation*, 73, 1986, pp. 30-40.
87. Meredith I.T., Friberg P., Jennings G.L., Dewar E.M., Fazio V.A., Lambert G.W., and Esler M.D., *Exercise training lowers resting renal but not cardiac sympathetic activity in humans*, *Hypertension*, 18, 1991, pp. 575-582.
88. Deng A.Y., *Human polygenic diseases, Animal Models*, In Tommaso A.Dragani (ed),. Taylor & Francis, Milan, 1998, pp. 81-111.
89. Deng A.Y., *Functional genomics of blood pressure determination: dissecting and assembling a polygenic trait by experimental genetics*, *Current hypertension reviews*, 1, 2005, pp. 35-50.
90. Rayson B.M., *Na⁺/K⁺-ATPase regulation in Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats*, *J.Biol.Chem.*, 263, 1988, pp. 11056-11058.
91. 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, 1962, pp. 1173-1190.
92. Dahl L.K., Heine M., and Tassinari L., *Role of genetic factors in susceptibility to experimental hypertension due to chronic excess salt ingestion*, *Nature*, 194, 1962, pp. 480-482.

93. Ben Ishay D., Saliternik R., and Welner A., *Separation of two strains of rats with inbred dissimilar sensitivity to Doca-salt hypertension*. *Experientia*, 28, 1972, pp. 1321-1322.
94. Kuijpers M.H., Gruys E., *Spontaneous hypertension and hypertensive renal disease in the fawn-hooded rat*, *Br.J.Exp.Pathol.*, 65, 1984, pp. 181-190.
95. Smirk, F.H., Hall W.H., *Inherited hypertension in rats*, *Nature*, 182, 1958, pp. 727-728.
96. Markel A.L., *Experimental model of arterial hypertension conditioned by stress*, *Acad.Nauk SSSR seria Biol.*, 3, 1985, pp. 466-469.
97. Dupont J., Dupont J.C., Froment A., Milon H., and Vincent M., *Selection of three strains of rats with spontaneously different levels of blood pressure*, *Biomedicine*, 19, 1973, pp. 36-41.
98. Bianchi G., Fox U., and Imbasciati E., *The development of a new strain of spontaneously hypertensive rats*, *Life Sci.*, 14, 1974, pp. 339-347.
99. Heller J., Hellerova S., Dobesova Z., Kunes J., and Zicha J., *The Prague Hypertensive Rat: a new model of genetic hypertension*, *Clin.Exp.Hypertens.*, 15, 1993, pp. 807-818.
100. Okamoto K., Aoki K., *Development of a strain of spontaneously hypertensive rats*, *Jpn.Circ.J.*, 27, 1963, pp. 282-293.
101. Okamoto K., Yamori, Y., and Nagaoka A., *Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rat (SHR)*, *Circ.Res.*, 34, 1974, pp. 1-143-1-153.
102. Rapp J.P., *Genetic analysis of inherited hypertension in the rat*. *Physiol Rev.*, 80, 2000, pp. 135-172.
103. Deng A.Y., *Human polygenic diseases, Animal Models*, In Tommaso A. Dragani (ed), Taylor & Francis, Milan, 1998, pp. 81-111.
104. Titze J., Rittweger J., Dietsch P., Krause H., Schwind K.H., Engelke K., Lang R., Kirsch K.A., Luft F.C., and Hilgers K.F., *Hypertension, sodium retention, calcium excretion and osteopenia in Dahl rats*. *J.Hypertens.*, 22, 2004, pp. 803-810.
105. Rayson B.M., *Na⁺/K⁺-ATPase regulation in Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats*, *J.Biol.Chem.*, 263, 1988, pp. 11056-1105
106. 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 supplementation*, *Lab Invest*, 68, 1993, pp. 174-184.

107. 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 supplementation*, *Lab Invest*, 68, pp. 174-184.
108. Pinto Y.M., Paul M., and Ganten D., *Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering*. *Cardiovasc.Res.*, 39, 1998, pp. 77-88.
109. Sassard J., Lo M., and Liu K.L., *Lyon genetically hypertensive rats: an animal model of "low renin hypertension"*. *Acta Pharmacol.Sin.*, 24, 2003, pp. 1-6.
110. Kenyon C.J., Panarelli M., Zagato L., Torielli L., Heeley R.P., Holloway C.D., Fraser R., Casari G., Sutcliffe R.G., and Bianchi G., *Glucocorticoid receptor polymorphism in genetic hypertension*, *J.Mol.Endocrinol.*, 21, 1998. pp. 41-50.
111. Cusi D., Melzi M.L., Barlassina C., Sereni F., and Bianchi G., *Genetic models of arterial hypertension--role of tubular ion transport*, *Pediatr.Nephrol.*, 7, 1993, pp. 865-870.
112. Charron S., Duong C., Menard A., Roy J., Eliopoulos V., Lambert R., and Deng A.Y., *Epistasis, not numbers, regulates functions of clustered Dahl rat quantitative trait loci applicable to human hypertension*, *Hypertension*, 46, 2005, pp. 1300-1308.
113. Eliopoulos V., Dutil J., Grondin M., and Deng A.Y., *Severe hypertension caused by alleles from normotensive Lewis for a quantitative trait locus on chromosome 2*, *Physiol Genomics*, 22, 2005, pp. 70-75.
114. 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, 1998, pp. 38-43.
115. Lander E.S., Schork N.J., *Genetic dissection of complex traits*, *Science*, 265, 1994, pp. 2037-2048.
116. Stephen E., Daly M.J., and Lander E.S., *Constructing Genetic Linkage Maps with MAPMAKER/EXP, Version 3.0, A Tutorial and Reference Manual*, <http://linkage.rockefeller.edu/soft/mapmaker/> , 1993
117. O'Donnell C.J., Lindpaintner K., Larson M.G., Rao V.S., Ordovas J.M., Schaefer E.J., Myers R.H., and Levy D., *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, 1998, pp. 1766-1772.

118. Jeunemaitre X., Soubrier F., Kotelevtsev Y.V., Lifton R.P., Williams C.S., Charru A., Hunt S.C., Hopkins P.N., Williams R.R., Lalouel J.M., *Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen*, Cell, 71, 1992, pp. 169-180.
119. Deng A.Y., *Positional cloning of quantitative trait Loci for blood pressure: how close are we?: a critical perspective*, Hypertension, 49, 2007, pp. 740-747.
120. Deng A.Y., *In search of hypertension genes in Dahl salt-sensitive rats*, J.Hypertens., 16, 1998, pp. 1707-1717.
121. Frantz S.A., Kaiser M., Gardiner S.M., Gauguier D., Vincent M., Thompson J.R., Bennett T., and Samani N.J., *Successful isolation of a rat chromosome 1 blood pressure quantitative trait locus in reciprocal congenic strains*, Hypertension, 32, 1998, pp. 639-646.
122. 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, 2002, pp. 45-53.
123. Deng A.Y., Dutil J., and Sivo Z., *Utilization of marker-assisted congenics to map two blood pressure quantitative trait loci in Dahl rats*, Mamm.Genome, 12, 2001, pp. 612-616.
124. 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, 2005, pp. 451-459.
125. Olofsson P., Holmberg J., Tordsson J., Lu S., Akerstrom B., and Holmdahl R., *Positional identification of Ncf1 as a gene that regulates arthritis severity in rats*, Nat.Genet., 33, 2003, pp. 25-32.
126. Baltat O., Bader M., *Brain renin-angiotensin system. Lessons from functional genomics*, Neuroendocrinology, 78, 2003, pp. 253-259.
127. Herrera V.L., Xie X., Lopez L.V., Schork N.J., and Ruiz-Opazo N., *The alpha1 Na,K-ATPase gene is a susceptibility hypertension gene in the Dahl salt-sensitiveHSD rat*, J.Clin.Invest, 102, 1998, pp. 1102-1111.
128. Mullins J.J., Peters J., and Ganten D., *Fulminant hypertension in transgenic rats harbouring the mouse Ren-2 gene*, Nature, 344, 1990, pp. 541-544.
129. 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, 1999, pp. 259-265.

130. Charron S., Lambert R., Eliopoulos V., Duong C., Menard A., Roy J., and Deng A.Y., *A loss of genome buffering capacity of Dahl salt-sensitive model to modulate blood pressure as a cause of hypertension*, Hum.Mol.Genet., 14, 2005, pp. 3877-3884.
131. Garrett M.R., Dene H., Walder R., Zhang Q.Y., Cicila G.T., Assadnia S., Deng A.Y., and Rapp J.P., *Genome scan and congenic strains for blood pressure QTL using Dahl salt-sensitive rats*, Genome Res., 8, 1998, pp. 711-723.
132. Gu L., Dene H., Deng A.Y., Hoebee B., Bihoreau M.T., James M., and Rapp J.P., *Genetic mapping of two blood pressure quantitative trait loci on rat chromosome 1*, J.Clin.Invest, 97, 1996, pp. 777-788.
133. 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, 1994, pp. 2701-2709.
134. Griffiths A.J.F., Gelbart W.M., Miller J.H., and Lewontin R.C., *Analyse génétique moderne*. DeBoeck Université, Paris, 2001, pp. 165-196.
135. 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, 1994, pp. 431-436.
136. Hilbert P., Lindpaintner K., Beckmann J.S., Serikawa T., Soubrier F., Dubay C., Cartwright P., De Gouyon B., Julier C., Takahasi S., *Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood-pressure regulation in hereditary hypertensive rats*, Nature, 353, 1991, pp. 521-529.
137. Jacob H.J., Lindpaintner K., Lincoln S.E., Kusumi K., Bunker R.K., Mao Y.P., Ganten D., Dzau V.J., and Lander E.S., *Genetic mapping of a gene causing hypertension in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat*, Cell, 67, 1991, pp. 213-224.
138. Deng A.Y., 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, 1995, pp. 2170-2177.
139. Baima J., Nicolaou M., Schwartz F., DeStefano A.L., Manolis A., Gavras I., Laffer C., Elijovich F., Farrer L., Baldwin C.T., and Gavras H., *Evidence for linkage between essential hypertension and a putative locus on human chromosome 17*, Hypertension, 34, 1999, pp. 4-7.
140. Levy D., DeStefano A.L., Larson M.G., O'Donnell C.J., Lifton R.P., Gavras H., Cupples L.A., and Myers R.H., *Evidence for a gene influencing blood pressure on chromosome 17. Genome scan linkage results for longitudinal blood pressure phenotypes in subjects from the framingham heart study*, Hypertension, 36, 2000, pp. 477-483.

141. 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, 1997, pp. 2077-2085.
142. Huang B.S., Ahmad M., Deng A.Y., and Leenen F.H., *Neuronal Responsiveness to Central Na⁺ in 2 Congenic Strains of Dahl Salt-Sensitive Rats*, *Hypertension*, 49, 2007, pp. 1315-1320.
143. 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., Woodward 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., Eyraes 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, 2004, pp. 493-521.
144. Rapp J.P., Dene H., *Development and characteristics of inbred strains of Dahl salt-sensitive and salt-resistant rats*, *Hypertension*, 1985, pp. 7, 340-349.
 145. Garrett M.R., Zhang X., Dukhanina O.I., Deng A.Y., and Rapp J.P., *Two linked blood pressure quantitative trait loci on chromosome 10 defined by dahl rat congenic strains*, *Hypertension*, 38, 2001, pp. 779-785.
 146. Brockway B.P., Hassler C.R., *New technologies and concepts for reducing drug toxicities*, Raton In Boca, F.C.p. (ed), 2007, pp. 109-132.
 147. Kawasaki T., Itoh K., and Cugini P., *Influence of reappportionment of daily salt intake on circadian blood pressure pattern in normotensive subjects*, *J.Nutr.Sci.Vitamino*, Tokyo, 40, v, pp. 459-466.
 148. Palijan A., Dutil J., and Deng A.Y., *Quantitative trait loci with opposing blood pressure effects demonstrating epistasis on Dahl rat chromosome 3*, *Physiol Genomics*, 15, 2003, pp. 1-8.
 149. Moujahidine M., Dutil J., Hamet P., and Deng A.Y., *Congenic mapping of a blood pressure QTL on chromosome 16 of Dahl rats*, *Mamm.Genome*, 13, 2002, pp. 153-156.
 150. Olkkola K.T., Ahonen J., *Midazolam and other benzodiazepines*, *Handb.Exp.Pharmacol.*, 2008, pp. 335-360.
 151. Wohlgemuth S.L., Crawford B.D., and Pilgrim D.B., *The myosin co-chaperone UNC-45 is required for skeletal and cardiac muscle function in zebrafish*, *Dev.Biol.*, 303, 2007, pp. 483-492.
 152. Aitsebaomo J., Kingsley-Kallesen M.L., Wu Y., Quertermous T., and Patterson C., *Vezf1/DBI is an endothelial cell-specific transcription factor that regulates expression of the endothelin-1 promoter*, *J.Biol.Chem.*, 276, 2001, pp. 39197-39205.
 153. Grundy S.M., *Inflammation, hypertension, and the metabolic syndrome*, *JAMA*, 290, 2003, pp. 3000-3002.
 154. De la F.M., Hernanz A., and Vallejo M.C., *The immune system in the oxidative stress conditions of aging and hypertension: favorable effects of antioxidants and physical exercise*, *Antioxid.Redox.Signal.*, 7, 2005, pp. 1356-1366.

155. Hilgers K.F., *Monocytes/macrophages in hypertension*, J.Hypertens., 20, 2002, pp. 593-596.
156. Dorffel Y., Latsch C., Stuhlmüller B., Schreiber S., Scholze S., Burmester G.R., and Scholze J., *Preactivated peripheral blood monocytes in patients with essential hypertension*, Hypertension, 34, 1999, pp. 113-117.
157. Li J.J., Fang C.H., and Hui R.T., *Is hypertension an inflammatory disease?* Med.Hypotheses, 64, 2005, pp. 236-240.
158. Rodriguez-Iturbe B., Johnson R.J., *Role of inflammatory cells in the kidney in the induction and maintenance of hypertension*, Nephrol.Dial.Transplant., 21, 2006, pp. 260-263.
159. Wang Y., Rosen H., Madtes D.K., Shao B., Martin T.R., Heinecke J.W., and Fu X., *Myeloperoxidase inactivates TIMP-1 by oxidizing its N-terminal cysteine residue: an oxidative mechanism for regulating proteolysis during inflammation*, J.Biol.Chem., 282, 2007, pp. 31826-31834.
160. Martin-Ventura J.L., Leclercq A., Blanco-Colio L.M., Egido J., Rossignol P., Meilhac O., and Michel J.B., *Low plasma levels of HSP70 in patients with carotid atherosclerosis are associated with increased levels of proteolytic markers of neutrophil activation*, Atherosclerosis, 194, 2007, pp. 334-341.
161. Asselbergs F.W., Reynolds W.F., Cohen-Tervaert J.W., Jessurun G.A., and Tio R.A., *Myeloperoxidase polymorphism related to cardiovascular events in coronary artery disease*, Am.J.Med., 116, 2004, pp. 429-430.
162. Schwarz D.A., Katayama C.D., and Hedrick S.M., *Schlafen, a new family of growth regulatory genes that affect thymocyte development*, Immunity, 9, 1998, pp. 657-668.
163. Wang J., Slungaard A., *Role of eosinophil peroxidase in host defense and disease pathology*, Arch.Biochem.Biophys., 445, pp. 256-260.
164. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=404093&ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum
165. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=10350&ordinalpos=2&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum
166. Knight J., Munroe P.B., Pembroke J.C., and Caulfield M.J., *Human chromosome 17 in essential hypertension*, Ann.Hum.Genet., 67, 2003, pp. 193-206.

167. Harrap S.B., *Where are all the blood-pressure genes?* Lancet, 361, 2003, 2003, pp. 2149-2151.
168. Flint J., Valdar W., Shifman S., and Mott R., *Strategies for mapping and cloning quantitative trait genes in rodents*, Nat.Rev.Genet., 6, 2005, pp. 271-286.
169. Caulfield M., Munroe P., Pembroke J., Samani N., Dominiczak A., Brown M., Benjamin N., Webster J., Ratcliffe P., O'Shea S., Papp J., Taylor E., Dobson R., Knight J., Newhouse S., Hooper J., Lee W., Brain N., Clayton D., Lathrop G.M., Farrall M., and Connell J., *Genome-wide mapping of human loci for essential hypertension*, Lancet, 361, 2003, pp. 2118-2123.
170. Rutherford S., Johnson M.P., Curtain R.P., and Griffiths L.R., *Chromosome 17 and the inducible nitric oxide synthase gene in human essential hypertension*, Hum.Genet., 2001, pp. 109, 408-415.
171. Rice T., Rankinen T., Province M.A., Chagnon Y.C., Perusse L., Borecki I.B., Bouchard C., and Rao D.C., *Genome-wide linkage analysis of systolic and diastolic blood pressure: the Quebec Family Study*, Circulation, 102, 2000, pp. 1956-1963.
172. Knight J., Gardner G.T., Clark A.J., and Caulfield M.J., *Investigation of chromosome 17q as a locus for human essential hypertension in African Caribbeans*, J.Hum.Hypertens., 14, 2000, pp. 385-387.
173. Sharma P., Fatibene J., Ferraro F., Jia H., Monteith S., Brown C., Clayton D., O'Shaughnessy K., and Brown M.J., *A genome-wide search for susceptibility loci to human essential hypertension*, Hypertension, 35, 2000, pp. 1291-1296.
174. Wu H., Tang W., Li H., Zhou X., Yang Y., Yu H., Li K., Xiao C., and Deng A.Y., *Association of the beta2-adrenergic receptor gene with essential hypertension in the non-Han Chinese Yi minority human population*, J.Hypertens., 24, 2006, pp. 1041-1047.