

Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften

Fachgebiet Humanernährung

**Einfluss einer hohen Natriumchlorid-Zufuhr und Kaliumbicarbonat-Ingestion auf
Säure-Basen-Status und Proteinstoffwechsel**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Ernährungs- und Haushaltswissenschaften

(Dr.oec.troph.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt am 15. September 2010

von

JUDITH BÜHLMEIER

aus Almelo (NL)

Referent:	PD Dr. Martina Heer
Koreferenten:	Prof. Dr. Thomas Remer Prof. Dr. Peter Stehle
Tag der mündlichen Prüfung:	11.03.2011
Erscheinungsjahr:	2011

Kurzzusammenfassung

Einfluss einer hohen Natriumchlorid-Zufuhr und Kaliumbicarbonat-Ingestion auf Säure-Basen-Status und Proteinstoffwechsel

Der charakteristische Muskelabbau der unteren Extremitäten in Immobilisation wird mit parallel beobachteten Proteinverlusten in Verbindung gebracht. Die selektive Atrophie wird auf eine Reduktion der mechanischen Belastung zurückgeführt, kann aber beispielsweise durch diätetische Einflussfaktoren verstärkt werden. So wird eine hohe Zufuhr von Natriumchlorid (NaCl) infolge azidogener Eigenschaften als unabhängiger Risikofaktor für Proteinverluste diskutiert. Ziel der Arbeit war es daher zum einen, die Auswirkungen einer hohen NaCl-Zufuhr auf den Säure-Basen-Status und Proteinstoffwechsel immobilisierter Versuchspersonen zu untersuchen. Da alkalische Mineralsalze bei metabolischer Azidose eine antikatabole Wirkung haben, sollte zum anderen der Einfluss einer oralen Gabe von Kaliumbicarbonat (KHCO₃) auf NaCl-induzierte Veränderungen des Säure-Basen-Status und erwartete Proteinverluste untersucht werden.

Die Fragestellungen wurden im Rahmen von zwei stationär im Stoffwechsellabor des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin (Köln) durchgeführten Interventionsstudien (Salty Life 7 und 8) bearbeitet. Beide Studien bestanden aus je zwei Studienteilen, welche von acht männlichen Versuchspersonen im randomisierten *crossover design* absolviert wurden. Die Intervention der Salty Life 7-Studie war eine 14-tägige Bettruhe in 6° Kopftieflage (*head-down-tilt bed rest*, HDTBR,) während der die Diät durch eine hohe (7,0 mmol NaCl/kgKG/d) bzw. niedrige (0,7 mmol NaCl/kgKG/d) NaCl-Zufuhr gekennzeichnet war. In der Salty Life 8-Studie waren die Probanden in beiden zehntägigen Interventionsphasen „gehfähig“ (*ambulatory*, ambulant) und erhielten eine hohe NaCl-Zufuhr (7,3 mmol NaCl/kgKG/d). Diese wurde in einem Studienteil durch die Supplementation von 3 x 30 mmol KHCO₃/d ergänzt. Den Interventionsphasen ging eine stationäre Adaptationsphase voraus. Während der gesamten Studiendauer erfolgte eine standardisierte Nährstoffzufuhr, die streng kontrolliert wurde. Zur Erfassung des systemischen Säure-Basen-Status wurden Blutgasanalysen durchgeführt, Parameter zur Differentialdiagnostik (Anionenlücke, Chloridkonzentration im Serum) erhoben und pH-Wert sowie Netto-Säureausscheidung im 24h-Urin bestimmt. Veränderungen des Gesamtkörper-Proteingehalts sind anhand der Stickstoffbilanz, berechnet aus Stickstoffaufnahme und -ausscheidung im 24h-Urin, erfasst worden. In der Salty Life 8-Studie wurden zusätzlich Messungen der postabsorptiven Gesamtkörper-Proteinkinetik anhand der *Tracer Dilution*-Methode durchgeführt. Die Konzentration des anabolen Stoffwechselformons IGF-1 wurde im Serum, die Ausscheidung der Glucocorticoide (GCs) Cortisol und Cortison im 24h-Urin analysiert.

Die hohe NaCl-Zufuhr hatte in Immobilisation im Vergleich zur niedrigen NaCl-Zufuhr eine hyperchlorämische, latente metabolische Azidose zur Folge. Immobilisationsbedingte renale Stickstoffverluste waren um 180% gesteigert. Gleichzeitig war die Ausscheidung des aktiven GCs Cortisol erhöht. Die Ingestion von KHCO₃ bei hoher NaCl-Zufuhr hat die NaCl-induzierte Reduktion der systemischen Pufferbasen temporär vermindert. Eine konstante Kompensation der NaCl-induzierten latenten metabolischen Azidose durch KHCO₃ wurde jedoch nicht beobachtet. Dennoch war die Ausscheidung der potentiell bioaktiven GCs und der Netto-Proteinabbau, gemessen als postabsorptive Hydroxylierungsrate von Phenylalanin, moderat vermindert. Dies hatte jedoch keinen Einfluss auf die Stickstoffbilanz.

Die Ergebnisse führen zu folgenden Schlussfolgerungen:

1. Eine hohe NaCl-Zufuhr verstärkt immobilisationsbedingte Proteinverluste. Dies scheint durch eine Wechselwirkung aus Veränderungen des Säure-Basen Status und gesteigerter Aktivität des GCs Cortisol verursacht zu werden.
2. Die Supplementation von 3 x 30 mmol KHCO₃/d war bei hoher NaCl-Zufuhr ungeeignet zur beständigen Kompensation der Veränderungen des Säure-Basen Status. Auch wenn bereits die temporäre Kompensation zu einer Reduktion von GC-Aktivität und Netto-Proteinabbau geführt hat, wurden NaCl-induzierte Stickstoffverluste innerhalb von zehn Tagen nicht vermindert.

Abstract

Influences of high dietary sodium chloride and potassium bicarbonate supplements on acid base status and protein metabolism

Immobilisation induces muscle loss, mainly occurring in the lower-limb muscles. This atrophy is associated with protein degradation. In addition to the direct effect of reduced mechanical loading, protein losses may be exacerbated by dietary impacts. Thus, a high NaCl intake is discussed as a risk factor for protein losses due to observed acidic properties. The first aim of the present work was therefore to investigate influences of a high dietary NaCl intake on acid base status and protein metabolism in healthy immobilized humans. In contrast, administration of alkaline salts during metabolic acidosis has been shown to act anticatabolic. Hence, the second object was a monitoring of both systems when potassium bicarbonate (KHCO_3) was supplemented during high NaCl intake.

Acid base status and protein metabolism were examined in the frame of two stationary interventional studies (Salty Life 7 and 8), performed in the metabolic lab of the Institute of Aerospace Medicine, Cologne, Germany. Each study was divided into two campaigns that were completed by eight male volunteers in a randomized crossover design. During the interventional phase of the Salty Life 7 subjects were immobilized in 6° head-down-tilt bed rest (HDTBR) for 14 days and received either a high (7.0 mmol NaCl/kgBM/d) or a low (0.7 mmol NaCl/kgBM/d) NaCl intake. During the ten days of ambulatory intervention of the Salty Life 8 the subjects received a high NaCl-diet (7.3 mmol NaCl/kgBM/d) that was supplemented by oral administration of 3 x 30 mmol KHCO_3 /d in one campaign. The intervention phases of each study were preceded by a stationary adaptation phase. Nutrient intake was standardized and strictly controlled for the whole duration of both studies. To assess systemic acid base status we analysed blood gases, parameters of differential diagnosis (anion gap, serum chloride) as well as pH and net acid excretion in 24h urine. Changes of whole body protein content were measured by nitrogen balance, calculated from nitrogen intake and excretion in 24h urine. During the Salty Life 8 whole body protein kinetics were measured by Tracer Dilution Technique in the postabsorptive state. Serum concentration of IGF-1 and 24h urinary excretion of potentially bioactive glucocorticoids (GCs), cortisol and cortisone, were also analysed.

During HDTBR high NaCl intake led to hyperchloremic, low-grade metabolic acidosis. Disuse-induced renal nitrogen losses were exacerbated by 180% and cortisol activity was concomitantly increased. KHCO_3 during high NaCl intake counteracted postprandial NaCl-induced reduction of buffer substance, but failed to consistently compensate NaCl-induced low-grade metabolic acidosis. Excretion of potentially bioactive GCs was reduced. Though rates of phenylalanine hydroxylation, a sensitive marker of whole body net protein catabolism, slightly decreased, nitrogen balance was insensitive to those changes.

To conclude:

1. High NaCl intake exacerbates disuse-induced protein losses. Concomitant changes in acid base status and increased GC activity seem to mediate this effect.
2. Administration of 3 x 30 mmol KHCO_3 /d appeared inadequate to compensate for NaCl-induced low grade metabolic acidosis. Even though temporary compensating led to reduced GC activity and net protein catabolism, NaCl-induced nitrogen losses were not prevented during ten days of high NaCl intake.

INHALTSVERZEICHNIS

Kurzzusammenfassung

Abstract

1	EINLEITUNG	1
2	HINTERGRUND UND STAND DER FORSCHUNG	3
2.1	Humanforschung im Weltraum.....	3
2.2	Natriumchlorid (NaCl)	5
2.2.1	Physiologie, Bedarf und Aufnahme von Natriumchlorid.....	5
2.2.2	Einfluss von Natriumchlorid auf den Säure-Basen-Status.....	7
2.3	Der Proteinstoffwechsel.....	9
2.3.1	Relevanz des Proteinstoffwechsels für den Erhalt von Muskelmasse.....	9
2.3.2	Regulation des Proteinstoffwechsels	11
2.3.3	Einfluss des Säure-Basen-Status' auf den Proteinstoffwechsel	12
2.4	Ziel der Arbeit.....	16
3	MATERIAL UND METHODEN	17
3.1	Studiendesigns.....	18
3.1.1	Salty Life 7: variierende NaCl-Zufuhr während HDTBR.....	18
3.1.2	Salty Life 8: KHCO ₃ -Supplementation bei hoher NaCl-Zufuhr.....	19
3.2	Metabolisches Labor	20
3.3	Probandenkollektive	21
3.3.1	Rekrutierung und Screening.....	21
3.3.2	Anthropometrische Daten und Aktivitätslevel der Probanden.....	22
3.4	Diät.....	23
3.5	Probenmaterial	26
3.5.1	Kapillarblut	26
3.5.2	Serum	27
3.5.3	24h-Urin.....	27
3.6	Bestimmungsmethoden	28
3.6.1	Parameter des Säure-Basen-Status	28
3.6.1.1	pH-Wert, Pufferbasen und Gase im Kapillarblut	28

3.6.1.2	Anionenlücke im Blut.....	28
3.6.1.3	Chloridkonzentration im Serum.....	29
3.6.1.4	Potentielle renale Säurelast der Diät	30
3.6.1.5	pH-Wert im 24h-Urin	30
3.6.1.6	Netto-Säureausscheidung im 24h-Urin.....	31
3.6.2	Stickstoffbilanz	31
3.6.3	IGF-1-Konzentration im Serum.....	32
3.6.4	Freies Cortisol und Cortison im 24h-Urin	32
3.6.5	Postabsorptiver Gesamtkörper-Proteinstoffwechsel (Salty Life 8).....	33
3.7	Statistische Auswertung.....	37
4	ERGEBNISSE	39
4.1	Salty Life 7	39
4.1.1	Säure-Basen-Status im Blut.....	39
4.1.1.1	pH-Wert, Pufferbasen und Blutgase	39
4.1.1.2	Anionenlücke und Chloridkonzentration	43
4.1.2	Potentielle renale Säurelast der Diät	44
4.1.3	Säure-Basen-Status im 24h-Urin.....	45
4.1.3.1	pH-Wert.....	45
4.1.3.2	Netto-Säureausscheidung.....	46
4.1.4	Stickstoffbilanz	47
4.1.5	IGF-1-Konzentration im Serum.....	48
4.1.6	Ausscheidung von freiem Cortisol und Cortison im 24h-Urin.....	49
4.2	Salty Life 8	50
4.2.1	Säure-Basen-Status im Blut.....	50
4.2.1.1	pH-Wert, Pufferbasen und Blutgase	50
4.2.1.2	Anionenlücke und Chloridkonzentration	58
4.2.2	Potentielle renale Säurelast der Diät	59
4.2.3	Säure-Basen-Status im 24h-Urin.....	59
4.2.3.1	pH-Wert.....	59
4.2.3.2	Netto-Säureausscheidung.....	60
4.2.4	Stickstoffbilanz	61
4.2.5	Postabsorptiver Gesamtkörper-Proteinstoffwechsel	62
4.2.5.1	Proteolyse	63

4.2.5.2	Aminosäureabbau	64
4.2.5.3	Proteinbiosynthese	65
4.2.6	IGF-1-Konzentration im Serum	66
4.2.7	Ausscheidung von freiem Cortisol und Cortison im 24h-Urin	66
5	DISKUSSION.....	68
5.1	Einfluss der hohen NaCl-Zufuhr auf Säure-Basen-Status und Proteinstoffwechsel	68
5.2	Einfluss der KHCO ₃ -Supplementation bei hoher NaCl-Zufuhr auf Säure-Basen-Status und Proteinstoffwechsel	76
5.3	Schlussfolgerung und Ausblick.....	83
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	85
7	LITERATURVERZEICHNIS.....	88
8	DANKSAGUNG	104

ABKÜRUNGSVERZEICHNIS

[A]	Konzentration schwacher Säuren
AMSAN	<u>A</u> rbeits <u>m</u> edizinische <u>S</u> imulations <u>a</u> nlage
ANOVA	<i>analysis of variance</i> (engl.), Varianzanalyse
ARF	<i>acute renal failure</i> (engl.), akutes Nierenversagen
BA	Blutabnahme
BCAA	<i>branched-chain amino acids</i> (engl.), verzweigtkettige Aminosäuren
BE	<i>base excess</i> (engl.), Basenüberschuss
BL	<i>Baseline</i> (engl.), Basisdatenerhebung
BMI	<i>Body Mass Index</i> (engl.), Körpermassenindex
BMR	<i>basal metabolic rate</i> (engl.), Grundumsatz
bzgl.	bezüglich
ca.	circa
Ca ²⁺	Calciumion
°C	Grad Celsius
Cl ⁻	Chloridion
[Cl]	Chloridkonzentration
CO ₂ ⁻	Kohlendioxid
CRF	<i>chronical renal failure</i> (engl.), chronische Niereninsuffizienz
d	<i>day</i> (engl.), Tag
D2Tyr	L-[ring-3,5-D2]Tyrosin
D4Tyr	L-[ring-D4]Tyrosin
D5Phe	L-[ring-D5]Phenylalanin
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
d.h.	das heißt
DLR	Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt e.V.
EKG	Elektrokardiogramm
EZR	Extrazellularraum
EZV	Extrazellularvolumen
FFM	<i>fat free mass</i> (engl.), fettfreie Körpermasse
fGcA	funktionale Glucocorticoidaktivität
g	Gramm
GAG	Glycosaminoglycan
GC	Glucocorticoid
ggf.	gegebenfalls
GH	<i>Growth Hormone</i> (engl.), Wachstumshormon
h	<i>hour</i> (engl.), Stunde
H ⁺	Wasserstoff-Ion

HCO_3^-	Bicarbonation
$[\text{HCO}_3^-]$	Bicarbonatkonzentration
HDTBR	<i>head-down-tilt bed rest</i> (engl.), Bettruhe in 6° Kopftieflage
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> (engl.), humanes Immundefizienz Virus
i	Infusionsrate
IGF-1	<i>Insulin-like growth factor 1</i> (engl.), Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor
IGFBP-3	<i>IGF-Binding-Protein-3</i> (engl.), IGF-1 bindendes Protein Typ 3
IRMA	<u>Immunoradiometrischer assay</u>
ISS	<i>International Space Station</i> (engl.), Internationale Raumstation
IU	<i>International Units</i> (engl.), Internationale Einheiten
IZR	Intrazellularraum
K^+	Kaliumion
$[\text{K}^+]$	Kaliumkonzentration
Kcal	Kilokalorien
KHCO_3	Kaliumbicarbonat
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
max.	maximal
mEq	milliäquivalent
Mg_2^+	Magnesiumion
mmHg	millimeter Quecksilbersäule
mmol	millimol
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i> (engl.), Boten Ribonukleinsäure
MW	Mittelwert
μl	mikroliter
n	Anzahl
N	Stickstoff
NAE	<i>net acid excretion</i> (engl.), Netto Säureausscheidung
Na^+	Natriumion
$[\text{Na}^+]$	Natriumkonzentration
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO_3	Natriumbicarbonat
NASA	<i>National Aeronautics and Space Administration</i> (engl.), US-amerikanische Raumfahrtbehörde
NEAP	<i>net endogenous acid production</i> (engl.), endogene Netto Säureproduktion
NH_3	Ammoniak
NH_4^+	Ammoniumion
NH_4Cl	Ammoniumchlorid
O_2	Sauerstoff

o.g.	oben genannt
p	<i>probability</i> (engl.), Irrtumswahrscheinlichkeit
PAL	<i>physical activity level</i> (engl.), physikalischer Aktivitätslevel
pCO ₂	Partialdruck für Kohlendioxid
pH	<i>pondus hydrogeniie</i> (lat.), Wirksamkeit des Wasserstoffs
Phe	Phenylalanin
pO ₂	Partialdruck für Sauerstoff
PO ₄ ³⁻	Phosphat-Ion
PRAL	<i>potential renal acid load</i> (engl.), potentielle renale Säurelast
R _a	<i>Rate of appearance</i> (engl.), Erscheinungsrage
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
rpm	<i>rounds per minute</i> (engl.), Drehzahl
SD	Standardabweichung
SID	<i>strong ion difference</i> (engl.), Differenz starker Ionen
TA	<i>titrable acid</i> (engl.), titrierbare Säure
TEF	<i>thermic effect of feeding</i> (engl.), nahrungsinduzierte Thermogenese
Tyr	Tyrosin
u.a.	unter anderem
UFE	<i>urinary free cortisone</i> (engl.), freies Cortison im Urin
UFF	<i>urinary free cortisol</i> (engl.), freies Cortisol im Urin
UPS	Ubiquitin-Proteasom System
v.a.	vor allem
vs.	versus
WHO	<i>World Health Organisation</i> (engl.), Weltgesundheitsorganisation
z.Zt.	zur Zeit
11-β-HSD 1/2	11-β-hydroxysteroid-Dehydrogenase Typ 1/2

1 Einleitung

Während der bemannten Weltraumfahrt kommt es zu physiologischen Adaptationen des Organismus an die veränderten Umgebungsbedingungen. Dies ermöglicht zum einen neue experimentelle Ansätze, um ein umfassenderes Grundlagenverständnis der Humanphysiologie zu erhalten, zum anderen bringt es neue Herausforderungen in Bezug auf die langfristige Gesunderhaltung der Weltraumfahrer und den Missionserfolg mit sich.

So führen Mikrogravitation und Immobilisation u.a. zu Verlusten von Muskelmasse und dementsprechenden Kräfteinbußen, welche vorwiegend in den unteren Extremitäten auftreten. Diese gehen mit einer Veränderung des Gleichgewichts aus Proteolyse und Proteinbiosynthese einher (Stein and Gaprindashvili 1994; Grigoriev and Egorov 1992; Grigoriev and Egorov 1991). Auch wenn diese Veränderungen unter den gegebenen Umgebungsbedingungen als physiologisch betrachtet werden, erschweren sie den Wiedereintritt ins Schwerkraftfeld und gefährden somit den Missionserfolg sowie die langfristige Gesundheit des Weltraumfahrers. Speziell bei solch vulnerablen Gruppen ist eine adäquate Nährstoffzufuhr essentiell, um eine physische und mentale Gesundheit zu gewährleisten. Jedoch haben Ernährungserhebungen während europäischer Weltraummissionen gezeigt, dass die Zufuhr von Kochsalz (Natriumchlorid (NaCl)) im All weit oberhalb der Empfehlungen liegt (Heer et al. 2000). Eine hohe NaCl-Zufuhr ist nicht nur Risikofaktor für die Entwicklung einer Hypertonie und/oder Osteoporose (Caudarella et al. 2009; Meneton et al. 2005; Blackwood et al. 2001; Nordin et al. 1993; Need et al. 1991; Elliott 1989; Goulding and Gold 1988; Goulding and Gold 1986; Goulding and McIntosh 1986a; Goulding and McIntosh 1986b; Goulding and Campbell 1984), sondern wird zudem mit einer latenten metabolischen Azidose assoziiert (Frings-Meuthen et al. 2008c; Frassetto et al. 2007). Bei dieser milden Störung finden die Veränderungen des Säure-Basen-Status zwar innerhalb des Normbereiches statt, dennoch erfolgt eine Adaptation des Multiorgansystems zur Regulation des Säure-Basen-Haushalts (Vormann and Goedecke 2006). Diese wird u.a. als Risikofaktor für Verluste von Protein- und somit Muskelmasse diskutiert (Frassetto et al. 2008).

Aufgrund der beobachteten Veränderungen des Säure-Basen-Status ist eine Steigerung immobilisationsbedingter Proteinverluste durch eine hohe NaCl-Zufuhr denkbar. In einem Simulationsmodell für physiologische Veränderungen in Schwerelosigkeit, der Bettruhe in 6° Kopftiefe (head-down-tilt bed rest, HDTBR), wird daher der Einfluss einer hohen NaCl-Zufuhr auf den Säure-Basen-Status und den Stickstoffhaushalt untersucht.

Die Korrektur der charakteristischen metabolischen Azidose niereninsuffizienter Patienten durch exogene Zufuhr alkalischer Mineralsalze hat eine Reduktion multikausaler Proteinverluste bewirkt (Lofberg et al. 2006; Williams et al. 1991a; Papadoyannakis et al. 1984). Daher wird in einer zweiten Studie geprüft, ob die Supplementation alkalischer Mineralsalze auch NaCl-induzierte Veränderungen des Säure-Basen-Status kompensiert und so die erwarteten Proteinverluste reduziert: bei einer Diät mit hoher NaCl-Zufuhr wird stationär der Einfluss einer oralen Kaliumbicarbonat-Administration auf den Säure-Basen-Status und den Proteinstoffwechsel untersucht.

Die Ergebnisse der Arbeit erweitern das Grundlagenverständnis der Wechselwirkung von NaCl-Zufuhr und Säure-Basen-Status sowie deren Einfluss auf den Proteinstoffwechsel. Dies kann einer verbesserten, adäquaten Nährstoffzufuhr während Weltraumaufenthalten dienen. Darüber hinaus können wertvolle Erkenntnisse für die Ernährung inaktiver und/oder geriatrischer Personengruppen auf der Erde gewonnen werden.

2 Hintergrund und Stand der Forschung

2.1 Humanforschung im Weltraum

Wesentliches Ziel der Humanphysiologie in der Weltraumforschung ist es, ein umfassendes Verständnis für die Einflüsse des Habitats Weltraum auf den menschlichen Organismus zu entwickeln, um Risiken und Langzeitfolgen des Aufenthaltes im All abschätzen und diesen gezielt entgegen wirken zu können. Diverse Ergebnisse und Phänomene dieses Forschungsfeldes können auf die Lebensumstände auf der Erde übertragen werden (Gerzer et al. 2006). So sind während des Aufenthaltes im All beispielsweise innerhalb eines verkürzten Zeitraums vergleichbare degenerative Prozesse zum Alterungsprozess zu beobachten. Zu diesen gehören u.a. eine Muskel- und Knochenatrophie, eine verminderte Immunantwort und Insulinsensitivität sowie oxidativer Stress (Biolo et al. 2003). Die vergleichsweise rapide Degeneration im All kann daher als Modell dienen, um lebenslange Alterungsprozesse auf der Erde nachzuvollziehen.

Da die Kapazität der Humanforschung im All durch eine kleine Fallzahl sowie operationelle und zeitliche Rahmenbedingungen limitiert ist, hat man Modelle zur Simulation der Schwerelosigkeit auf der Erde entwickelt. Die Bettruhe in 6° Kopftieflage (*head-down-tilt bed rest*, HDTBR) gilt derzeit als Goldstandard, um einige der physiologischen Veränderungen, die in Schwerelosigkeit auftreten, an einer größeren Probandenzahl zu untersuchen (Pavy-Le Traon et al. 2007). Analog bewirkt diese u.a. eine Immobilisation der unteren Extremitäten und eine maximale Reduktion der Schwerkraftstimuli der Erdanziehung. Die daraus resultierende verminderte mechanische Belastung ruft sowohl in echter als auch in simulierter Schwerelosigkeit Verluste von Muskelmasse und fettfreier Gesamtkörpermasse (*fett free mass*, FFM) hervor. Dies betrifft vorwiegend die unteren Extremitäten (de Boer et al. 2008; Stein et al. 1996; LeBlanc et al. 1995a; Leonard et al. 1983), wo in der Konsequenz Kräfteinbußen beobachtet werden (de Boer et al. 2008). Diese selektive Atrophie des skelettalen Muskels wird mit Veränderungen des Proteinstoffwechsels in Verbindung gebracht: Sowohl während Aufenthaltes im All als auch in HDTBR sind gesteigerte Stickstoffverluste beobachtet worden (Scheld et al. 2001; Stein et al. 1996). Diese werden auf eine verminderte Proteinbiosynthese (Biolo et al. 2004; Ferrando et al. 1996; Bettany et al. 1996; Gibson et al. 1987) im skelettalen Muskel (Ferrando et al. 1996) sowie einen Anstieg der Proteolyse der kontraktilen Proteine Aktin und Myosin in den unteren Extremitäten (Tesch et al. 2008) zurückgeführt. Auch auf den Knochen wirkt die verminderte mechanische Belastung katabol: Bereits innerhalb kurzer Zeit wurde sowohl im All als auch in HDTBR eine Zunahme der Knochenresorption bei konstanter bzw. leicht verminderter

Knochenformation festgestellt (Baecker et al. 2003; Inoue et al. 2000; Zerwekh et al. 1998; Smith et al. 1998; Lueken et al. 1993). Diese Entkopplung von Knochenformations- und -resorptionsprozessen führt bei Langzeitmissionen von vier bis sechs Monaten zu Abnahmen der Knochendichte im corticalen und trabekulären Knochen (Lang et al. 2004).

Zusammenfassend stellen Weltraumfahrer aufgrund der physiologischen Adaptation an die veränderten Umgebungsbedingungen eine vulnerable Bevölkerungsgruppe für Verluste funktionaler Körpermasse dar. Zur langfristigen Gesunderhaltung des Weltraumfahrers, seiner Mobilität und Arbeitsfähigkeit und dementsprechend für den Missionserfolg ist der Erhalt struktureller und funktionaler Integrität des muskuloskelettalen Systems allerdings von großer Bedeutung. Mehr denn je erfordert dies u.a. eine adäquate Nährstoffversorgung. Aktuell werden daher nicht nur Gegenmaßnahmen zur Prävention des Knochen- und Muskelabbaus in (simulierter) Schwerelosigkeit in Form eines effizienten Trainings, sondern auch eine adäquate Nährstoffzufuhr untersucht (NASA 2010). Die Ergebnisse liefern zudem wertvolle Erkenntnisse für die Forschungsfelder der Osteoporose und Sarkopenie und tragen auch dort zur Entwicklung von Präventions- und Akutmaßnahmen bei.

Die Nährstoffversorgung während des Shuttle-Fluges und auf der Internationalen Raumstation (*International Space Station*, ISS) birgt neben der logistischen Herausforderung auch technologische und physiologische Hindernisse. So kann beispielsweise die Verarbeitung der Lebensmittel (z.B. Bestrahlung, Thermostabilisierung, Gefriertrocknung und Vakuumierung) die Bioverfügbarkeit von Nährstoffen beeinträchtigen. Darüber hinaus enthalten die Lebensmittel viele Zusatzstoffe und NaCl. Stoffwechseleränderungen verursachen erhöhte Verluste verschiedener Nährstoffe, wie beispielsweise von Stickstoff und Calcium (Seddon et al. 1994). Zusätzlich reduzieren Aufregung, Stress, Nervosität, Geschmacksempfinden sowie das anfänglich auftretende *space adaptation syndrome* die Nährstoffaufnahme. Letzteres entsteht infolge des Kontrastes zwischen Extravasation und gegensätzlichen sensorischen Eindrücken. Folge ist ein reduziertes Hungerempfinden und Appetitlosigkeit (Grigoriev and Egorov 1992). Besonders im Hinblick auf mögliche Langzeitmissionen scheint eine adäquate Nährstoffversorgung daher z.Zt. ebenso kritisch wie wichtig zur Gesunderhaltung der Weltraumfahrer zu sein (Smith et al. 1997).

Auch die während des Aufenthalts im All dokumentierte NaCl-Zufuhr wird kritisch beurteilt. Ernährungserhebungen während der europäischen EuroMIR95 Mission haben gezeigt, dass die tägliche Natriumaufnahme der Kosmonauten bis zu 463 mEq/d (10,6 g Natrium/d; 27 g NaCl/d) betrug (Heer et al. 2000). Auch unter dem derzeitigen Lebensmittelprogramm der US-amerikanischen Raumfahrtbehörde (*National Aeronautics and Space Administration*, NASA) wurden vergleichbare Natriumaufnahmen (bis zu 10 g/d) dokumentiert (Smith et al.

2009). Dies entspricht etwa der dreifachen Menge der empfohlenen Natriumzufuhr während eines Weltraumaufenthalts (<3,5 g/d) (Smith and Zwart 2008). Diese Beobachtungen werden auf geschmackliche Veränderungen im All zurückgeführt: Stark gewürzte und gesalzene Lebensmittel werden hier bevorzugt. Als Ursache wird die in Schwerelosigkeit charakteristische Flüssigkeitsverschiebung in die oberen Körperkompartimente diskutiert. Diese kann zu einer Schwellung von Nase und Nasennebenhöhlen führen und so ein verändertes Geruchs- und Geschmacksempfinden hervorrufen (Seddon et al. 1994).

Die möglichen pathophysiologischen Konsequenzen dieser hohen NaCl-Zufuhr auf den Proteinstoffwechsel sind Fokus der vorliegenden Arbeit und werden im Folgenden behandelt.

2.2 Natriumchlorid (NaCl)

2.2.1 Physiologie, Bedarf und Aufnahme von Natriumchlorid

Natriumchlorid (NaCl), im allgemeinen Sprachgebrauch als Kochsalz bezeichnet, ist das Natriumsalz der Salzsäure, welches je Gramm aus 17 mmol des Kations Natrium (Na^+) und des Anions Chlorid (Cl^-) besteht. Aufgrund der unterschiedlichen Atomgewichte der Ionen (Na^+ : 23 g/mol, Cl^- : 35,5 g/mol) sind die Gewichtsanteile im Salz ungleich verteilt: Ein Gramm NaCl enthält 0,4 g Natrium und 0,6 g Chlorid (2:3) (DGE 2000).

Der Gesamtkörper-Natriumbestand eines Erwachsenen beträgt durchschnittlich 58 mmol/kg Körpergewicht (KG) (bei 70 kg: 4060 mmol). 30% sind im Knochen in kristalliner Struktur gebunden, die restlichen 40 mmol/kgKG (2800 mmol) liegen frei und ungebunden vor, $\frac{3}{4}$ davon in der extrazellulären Flüssigkeit (Lassiter 1990). Infolge dieser Verteilung ist Natrium das häufigste Kation des Extrazellulärraums (EZR) und bestimmt weitgehend dessen Volumen (EZV) und osmotische Regulation (Guyton and Hall 2000b). Daher ist die Natriumhomöostase essentiell zur Regulation des EZVs (Lassiter 1990). Diese wird vorwiegend durch das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) und das atriale natriuretische Peptid reguliert (Hall and Brands 1992). Weiterhin hat Natrium viele Funktionen auf zellulärer Ebene, wie beispielsweise den Ionentransport über die Zellmembran. Sowohl für elektrische als auch für Transportvorgänge ist hier ein primär natriumabhängiger elektrochemischer Gradient erforderlich, so dass die Natriumkonzentration im EZV in engen Grenzen reguliert wird (140 – 145 mmol im Plasma) (Guyton and Hall 2000b). Der Konzentrationsgradient zwischen intra- und extrazellulärem Natrium wird durch einen aktiven, energieverbrauchenden Transportmechanismus aufrecht erhalten (Aronson 1990).

Da Natrium das häufigste Kation des EZRs ist, liegen ca. 90% der extrazellulären Elektrolyte als Natriumsalze vor. In ca. zwei Drittel der Fälle ist das respektive Begleit ion Chlorid, ansonsten Bicarbonat (HCO_3^-). Chlorid hat einen Gesamtkörper-Bestand von 2300 mmol: 88% liegen im EZR vor, 12% befinden sich im Intrazellularraum (IZR). Insgesamt sind 32% des Gesamtkörper-Chlorids in Skelett, Muskulatur und Erythrozyten gebunden (Külpmann et al. 2002). Ebenso wie Natrium ist auch Chlorid essentiell zur Aufrechterhaltung der Membranpotentiale und zum Ionentransport über die Zellmembran. Darüber hinaus ist es Bestandteil der Magensäure (Biesalski and Grimm 2002).

Deutschland, Österreich und die Schweiz (D-A-CH-Staaten) empfehlen eine minimale Natriumzufuhr von 0,5 g Na^+ /d (24 mmol Na^+). Diese decken obligatorische Verluste ab – auch unter extremen Klimabedingungen und erhöhter körperlicher Aktivität. Der Chloridbedarf entspricht molar demjenigen von Natrium. Da beide Ionen vorwiegend in Form von NaCl aufgenommen werden, empfehlen die D-A-CH-Staaten eine maximale Zufuhr von 6 g NaCl/d (2,4 g Na^+). Von einer Zufuhr höherer Mengen wird aufgrund der potentiell pathophysiologischen Eigenschaften des Salzes (s. unten) abgeraten (DGE 2000).

Die tatsächliche Aufnahme beider Ionen überschreitet die hiesigen Empfehlungen jedoch nicht nur während des Aufenthaltes im All (s. 2.1): Die durchschnittliche NaCl-Zufuhr der Deutschen lag 1998 zwischen 6,9 g (19 – 25jährige) und 11,7 g (51 – 65jährige) (DGE 2004). Die vergleichsweise hohe NaCl-Zufuhr von Senioren führt man auf Einbußen des Geschmacksinns und der NaCl-Sensitivität zurück (Schiffman 1997). Diese Überschreitung der maximal akzeptablen Natriumzufuhr ist auch im Rahmen der Nationalen Verzehrsstudie 2005/2006 beobachtet worden (Bundesministerium für Ernährung and Max Rubener-Institut 2008). Laut Weltgesundheitsorganisation (*World Health Organisation*, WHO) ist dies ein internationaler Trend der meisten „zivilisierten“ Populationen (WHO and FAO 2003). Maximale Aufnahmen von 17,5 g NaCl/d wurden in der Volksrepublik China dokumentiert (Brown et al. 2009). Zudem überschreitet die durchschnittliche Aufnahme diese Angaben vermutlich, da die NaCl-Aufnahme anhand von Verzehrerhebungen tendenziell unterschätzt wird. Dies ist auf schwankende NaCl-Gehälter in Lebensmitteln und ungenaue Angaben der Lebensmittel-Datenbanken zurückzuführen (Remer et al. 2003).

In den westlichen Ländern ist die hohe NaCl-Zufuhr Resultat eines hohen Verzehrs verarbeiteter Lebensmittel, in ostasiatischen Ländern sind v.a. Sojasauce und Misosuppe Trägersubstanzen des Salzes. Beide Ionen werden nur zu geringen Anteilen mit den Grundnahrungsmitteln aufgenommen, da diese nur vergleichsweise geringe Mengen enthalten. NaCl wird erst während des Verarbeitungsprozesses zur verbesserten Haltbarkeit und Geschmacksintensivierung zugesetzt, so dass der Gehalt mit dem Verarbeitungsgrad

der Lebensmittel steigt. Die Verarbeitung von Grundnahrungsmitteln hat daher zu einem massiven Anstieg der NaCl-Aufnahme geführt. Orientiert an ihrem genetisch festgelegten Bedarf, leiden die zivilisierten Populationen deshalb neben einem chronischen Mangel an KHCO_3 auch an einer Überlastung mit NaCl (Sebastian et al. 2002; Frassetto et al. 2001).

Eine NaCl-Zufuhr über den Bedarf hinaus kann individuell gesundheitliche und demnach bei einem flächendeckenden Auftreten auch gesundheitsökonomische und volkswirtschaftliche Konsequenzen haben. Die bekanntesten Risiken einer hohen NaCl-Zufuhr sind die salzsensitive Hypertonie und die resultierenden kardiovaskulären Folgeerkrankungen (Meneton et al. 2005; Blackwood et al. 2001). Darüber hinaus ist die Natriumzufuhr jedoch auch eine wichtige Einflussgröße der renalen Calciumausscheidung: Je 100 mmol zugeführten Natriums steigt die renale Calciumausscheidung um 0,5 – 1,5 mmol und mit ihr das Risiko einer Demineralisierung des Knochens und der Bildung von Nierensteinen (Heaney 2006). Zudem gibt es zunehmend Hinweise, dass die NaCl-Zufuhr ein unabhängiger Einflussfaktor des Säure-Basen-Status sein könnte. Diese Beziehung wird im folgenden Kapitel näher betrachtet.

2.2.2 Einfluss von Natriumchlorid auf den Säure-Basen-Status

Die Aufrechterhaltung der Wasserstoffionenkonzentration ($[\text{H}^+]$) bzw. des pH-Wertes in Zellen und Körperflüssigkeiten ist essentiell zur zellulären und somit auch organischen Funktionsfähigkeit (Malnic 1988). Diese ist gemeinsames Ziel des dezentralen, multiorganischen, integrativen Systems Säure-Basen-Haushalt: Kurzfristige Schwankungen des pH-Wertes werden von chemischen Puffersystemen abgefangen. Das wichtigste Puffersystem im EZR ist das Bicarbonat/Kohlendioxid(CO_2)-Puffersystem. Des Weiteren tragen organische und anorganische Phosphate sowie Proteine hier zur Pufferung bei. Im IZR hingegen stellen die Proteine aufgrund ihrer hohen Konzentrationen den Hauptanteil der Puffersysteme dar (Guyton and Hall 2000a). Darüber hinaus wird der pH-Wert intrazellulär durch membranäre Transportmechanismen geregelt (Boron 2004). Langfristig passen im gesunden Organismus Lunge und Niere auf systemischer Ebene die Ausscheidung flüchtiger (Lunge) und fixer (Niere) Säuren an deren Bildung an und regulieren so das Gleichgewicht aus Säuren und Basen (Scheid 1999). Ferner reabsorbiert die Niere in Tubulus und Sammelrohren gefiltertes HCO_3^- und reguliert bei Bedarf in Kooperation mit der Leber die Ammoniak(NH_3)-Sekretion. Auf diese Weise passt sie die Protonenausscheidung und Regeneration von Puffersubstanz an den Bedarf an (vgl. 2.3.1 und 2.3.3).

Zur Evaluierung des Säure-Basen-Status wird zumeist Blut als Indikatorgewebe genutzt, da dieses vergleichsweise leicht zu entnehmen ist und einen mittleren Zustand der

Körpergewebe wiedergibt (Scheid 1999). Aufgrund der Relevanz des $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ Puffersystems im EZR wird der systemische Säure-Basen-Status laut Henderson-Hasselbalch Gleichung von der gesetzmäßigen Beziehung zwischen pH-Wert, HCO_3^- - und CO_2 -Konzentration bestimmt: Um einen pH-Wert von 7,40 zu halten, muss das Konzentrationsverhältnis $[\text{HCO}_3^-]/[\text{CO}_2]$ 20:1 betragen (Deetjen 1994). Dieses Verhältnis wird beim gesunden Menschen vom Partialdruck für CO_2 (pCO_2), der Nierenfunktion und der endogenen Netto-Säureproduktion (*net endogenous acid production*, NEAP) beeinflusst (Oh 2000; Guyton and Hall 2000a; Madias et al. 1979). Letztere ist Maß für das Verhältnis aus endogener Säureproduktion und Basenverlusten. Einflussfaktoren dieser wiederum sind die Säurelast der Diät und das Ausmaß der Oxidation organischer Säureanionen aus den Intermediärstoffwechseln. Umfassende Informationen hierzu liegen in Form von Review-Artikeln vor (Remer 2001; Remer 2000; Oh 2000; Cohen et al. 1997).

Die NEAP bei durchschnittlicher Kost beträgt ca. 70 mmol/d und wird im gesunden Organismus über die Niere eliminiert (Gluck 1998). Daher ist die renale Netto-Säureausscheidung (*net acid excretion*, NAE) im *steady state*-Zustand ein zuverlässiges quantitatives Maß der NEAP (Kurtz et al. 1983) und nach der Blutgasanalyse der am häufigsten bestimmte Parameter des systemischen Säure-Basen-Status. Allerdings wird die renale Kapazität zur Ausscheidung der NEAP beim Gesunden durch den Alterungsprozess gemindert (Frassetto and Sebastian 1996; Frassetto et al. 1996) und durch eine hohe Proteinzufuhr gesteigert (Manz et al. 1995; Remer and Manz 1995).

Neben den genannten anerkannten Einflussfaktoren des systemischen Säure-Basen-Status eines gesunden Organismus im *steady state*-Zustand, Säurelast der Diät, pCO_2 und altersabhängiger Nierenkapazität, gibt es Hinweise, dass auch die NaCl-Zufuhr ein unabhängiger Einflussfaktor des systemischen Gleichgewichts aus Säuren und Basen ist:

Autoren aus Anästhesie und Intensivmedizin berichten, dass die intraoperative Infusion isotoner (0,9%) und hypertoner (7,5%) NaCl-Lösung zu akuten Veränderungen des Säure-Basen-Status führt (Kolsen-Petersen et al. 2005; Rehm and Finsterer 2003; Scheingraber et al. 1999; Miller and Waters 1997; Makoff et al. 1970). Unterstützend haben Untersuchungen von Sharma et al. (Sharma et al. 1990) gezeigt, dass eine hohe orale NaCl-Zufuhr von 14 g NaCl bei 16 salz-sensitiven, aber normotensiven jungen Männern pH-Wert und $[\text{HCO}_3^-]$ reduziert hat. Weitere Ergebnisse aus Tierversuchen und Humanstudien stützen diese Beobachtungen (Sharma et al. 1993; Battle et al. 1993). Unabhängig von einer möglichen Salzsensitivität haben Frassetto et al. (Frassetto et al. 2007) an einem Kollektiv von 77 Versuchspersonen demonstriert, dass die NaCl-Zufuhr ein unabhängiger Einflussfaktor der $[\text{HCO}_3^-]$ im Plasma zu sein scheint. Dieser Hinweis wurde von Frings-Meuthen et al. (Frings-

Meuthen et al. 2008b) in einer kontrollierten Interventionsstudie an neun Probanden bestätigt: Die fortschreitende Erhöhung der NaCl-Zufuhr verringerte parallel pH-Wert und $[\text{HCO}_3^-]$. Beide Autoren schlussfolgern, dass eine hohe NaCl-Zufuhr zu einer latenten metabolischen Azidose führt. Im Gegensatz zur klinisch manifesten metabolischen Azidose ist diese durch geringfügige Verschiebungen des pH-Wertes im Blut und eine reduzierte Konzentration systemischer Pufferbasen gekennzeichnet (Pizzorno et al. 2010; Vormann and Goedecke 2006). Der Auslöser dieser NaCl-induzierten Veränderungen des Säure-Basen-Status ist unklar.

Die klinische Relevanz dieser Anomalie des Säure-Basen-Status wird jedoch kontrovers diskutiert, da die latente metabolische Azidose nicht von klinischen Symptomen begleitet wird und die Veränderungen des Säure-Basen-Status innerhalb des Normbereiches auftreten. Nichtsdestotrotz gibt es bereits eine Vielzahl an Untersuchungen, die demonstrieren, dass bereits die latente metabolische Azidose einen katabolen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel zu haben scheint (Macdonald et al. 2005; New et al. 2004; Sellmeyer et al. 2001; Tucker et al. 2001; Frassetto et al. 2000). Nach Frassetto et al. (Frassetto et al. 2008) kann die NaCl-induzierte latente metabolische Azidose jedoch nicht nur zur Pathogenese der Osteoporose, sondern auch derjenigen weiterer altersabhängiger Krankheiten wie der Nephrolithiasis und der Sarkopenie beitragen. Auf den Zusammenhang mit letzterer wird im folgenden Kapitel eingegangen.

2.3 Der Proteinstoffwechsel

2.3.1 Relevanz des Proteinstoffwechsels für den Erhalt von Muskelmasse

Sarkopenie (*sarx* (griech.): das Fleisch, *penia* (griech.): der Mangel) bezeichnet den Verlust von Muskelmasse mit fortschreitendem Alter: Ab dem 50. Lebensjahr werden jährlich ca. 0,5 – 2% Muskelmasse abgebaut (Wackerhage and Rennie 2006). Auch wenn diese Form der Atrophie nicht ausschließlich denselben molekularen Ursprung hat wie diejenige der Immobilisation, sind beide durch die Abnahme von Kraft, Belastbarkeit, Faserdurchmesser und Proteingehalt gekennzeichnet (Jackman and Kandarian 2004). Die Abnahme des Proteingehalts gilt dabei als zentrales Kennzeichen einer Atrophie der Skelettmuskulatur (Bajotto and Shimomura 2006). Der Erhalt von Muskelmasse erfordert daher ein kontinuierliches Gleichgewicht zwischen Proteolyse und Proteinbiosynthese (Lang et al. 2009). Dessen Regulation wird nachstehend erläutert.

Im gesunden Humanorganismus werden täglich ca. 4 g Protein/kgKG abgebaut und durch *de novo*-Synthese wieder ersetzt (Welle 1998). Dieser Prozess ist notwendig, um die

funktionale und strukturelle Integrität der Proteine zu erhalten (Wagenmakers 1999). Mit einem Gesamtkörper-Proteinanteil von mehr als 50% ist die Skelettmuskulatur am stärksten betroffen, obwohl sie eine vergleichsweise langsame Umsatzrate mit einem Anteil von 30% am Gesamtkörper-Proteinumsatz aufweist (Welle 1998). Die Kinetik des Protein-stoffwechsels wird vorwiegend durch das Wechselspiel aus postabsorptivem Aminosäureabbau und postprandialem Katabolismus bestimmt: Postabsorptiv werden Aminosäuren aus der Muskulatur zur hepatischen Gluconeogenese bereitgestellt. Die Bilanz aus Proteinbiosynthese und Proteolyse ist hier negativ. Dazu übertragen die Myocyten die Aminogruppe der durch die Proteolyse freigesetzten Aminosäuren auf Pyruvat, so dass Alanin entsteht. Neben Glutamin ist Alanin die am häufigsten vom Muskel freigesetzte Aminosäure und liefert der Leber postabsorptiv gluconeogenetisches Substrat. Das Ammoniak (NH_3), welches bei der hepatischen Desaminierung anfällt, wird in Form von Harnstoff fixiert und renal ausgeschieden (Horn et al. 2003). Im gesunden Organismus wird außerdem ein geringer Teil des NH_3 s in Form von Glutamin zur Niere transportiert, welches dort katabolisiert wird. Das anfallende NH_3 wird ins Tubulolumen sezerniert und erleichtert als Puffersubstanz die Protonenausscheidung und gleichzeitig die Natriumreabsorption und Wiederauffüllung des systemischen NaHCO_3 Pools (Guyton and Hall 2000a). Auf diese Weise trägt auch die Stickstoffausscheidung zur Regulation des Säure-Basen-Haushalts bei (vgl. 2.3.3). Die postabsorptiven Verluste in der Peripherie werden postprandial durch den veränderten Hormonstatus und die hohe Verfügbarkeit von Aminosäuren wieder ausgeglichen (Tessari et al. 1987) (s. 2.3.2).

Im Gegensatz zu Alanin wird Glutamin unabhängig von der diurnalen Nährstoffaufnahme freigesetzt, da es das bevorzugte energetische Substrat der Zellen des Immunsystems, der Niere und des Darms ist (Ruderman 1975). Diese können die Aminosäure selektiv aus dem Blut extrahieren (Wagenmakers 1998). Daher vermutet man, dass pathologische Konditionen wie beispielsweise oxidativer Stress oder die Aktivierung des Immunsystems, eine erhöhte Freisetzung von Glutamin aus dem Muskel bewirken (Biolo et al. 2005). Auch bei metabolischer Azidose erfolgt ein forcierter Glutaminabbau welcher bei intakter Nierenfunktion mit einer gesteigerten Ammoniogenese einhergeht (s. 2.3.3) (Welbourne 1987; Welbourne 1986; Tannen 1983).

Da nahezu der gesamte Stickstoff im menschlichen Körper in Proteinen enthalten ist, dient die Stickstoffbilanz als Marker für die Netto-Bilanz aus Proteinbiosynthese und Proteinabbau. Diese wird als Differenz aus Stickstoffaufnahme und -verlusten in Urin, Fäzes und Haut berechnet (Welle 1998). Da Stickstoffverluste über Haut und Fäzes als vergleichsweise konstant angenommen werden, vernachlässigt man diese jedoch oftmals (Kreymann 2004).

Eine negative Stickstoffbilanz zeigt eine Reduktion des Gesamtkörper-Proteingehalts und eine katabole Stoffwechselsituation an, eine positive ist Indikator eines Anabolismus. Anhand der Stickstoffbilanz können jedoch nur statische Veränderungen des Gesamtkörper-Proteingehaltes und keine Veränderungen der Proteolyse und Proteinbiosynthese erfasst werden. Eine Aussage über diese Dynamiken des Proteinstoffwechsels liefert die *Tracer Dilution*-Methode, bei der stabil markierte Aminosäuren als Tracer des Proteinstoffwechsels eingesetzt werden (Wagenmakers 1999; Short et al. 1999; Welle 1998; Clarke and Bier 1982).

2.3.2 Regulation des Proteinstoffwechsels

Das homöostatische Gleichgewicht aus Proteolyse und Proteinbiosynthese wird durch zahlreiche, teilweise redundante, endokrine, parakrine und autokrine Kontrollmechanismen reguliert. Diese Regulative bewirken einen selektiven und präzisen Ablauf von Proteolyse und Proteinbiosynthese, da bereits kleine Veränderungen von Prozessraten zu Verlusten des Proteingehalts führen.

Die Stoffwechselhormone werden entsprechend ihrer hauptsächlichen Wirkung in „generell anabol“ oder „generell katabol“ unterteilt (vgl. Tabelle 2.1). Für den Erhalt des physiologischen Gesamtkörper-Proteingehaltes ist das Gleichgewicht aus anabolen und katabolen Faktoren entscheidend (Welle 1998).

Tabelle 2.1 Endokrine Kontrollmechanismen des Proteinstoffwechsels nach Welle (Welle 1998).

Anabol	Katabol
Insulin	Cortisol
Growth Hormone (GH)	Trijodthyronin und Thyroxin
Insulin-like growth factor I (IGF-1)	Glucagon
Testosteron	Cytokine
(Östradiol)	(Progesteron)
Epinephrin	

Der postprandiale Aminosäurefluss (s. 2.3.1) wird zum einen durch eine hohe Verfügbarkeit von Aminosäuren, zum anderen durch einen hohen Insulinspiegel verursacht. Diese Kombination bewirkt intramuskulär einen Anstieg der Proteinbiosynthese und eine verminderte Proteolyse. Postabsorptiv hingegen bewirken der Abfall des Insulinspiegels und der Anstieg der Glucagonkonzentration die Mobilisation von Aminosäuren aus der Muskulatur zur hepatischen Gluconeogenese (Voigt 1999). Demnach spielt Insulin eine zentrale Rolle bei der Regulation des Gleichgewichts aus postabsorptivem Proteinkatabolismus und postprandialem -anabolismus.

Ein ähnlich anaboles Verhalten wie Insulin zeigt der *Insulin-like growth factor 1* (IGF-1): Aufgrund der Strukturähnlichkeit mit Insulin kann dieser in hohen Konzentrationen an die Insulinrezeptoren binden und dort entsprechende Reaktionen auslösen. Die IGF-1-Bildung in der Leber und anderen Geweben wird vom *Growth Hormone* (GH) reguliert (Laron 2001; Millward 1999; Welle 1998). Daher bezeichnet man die Kaskadenreaktion, die zur Bildung von IGF-1 führt, als *GH/IGF-1 axis*. Inzwischen ist man sich einig, dass IGF-1 der Mediator der anabolen Wirkung der *GH/IGF-1 axis* ist, GH aber zudem einen unabhängigen, synergistischen Einfluss hat (Laron 2001).

Zu den zentralen katabolen Hormonen des humanen Organismus zählen u.a. die Glucocorticoide (GC). Eine pathologische Steigerung dieser, wie beispielsweise beim *Cushing's Syndrome* oder *Cushing's disease*, hat eine exzessive Bereitstellung von Protein zur hepatischen Gluconeogenese zur Folge (Für weitere Informationen s. (Orth 1995)). Auch eine temporäre, reversibel vermehrte Verfügbarkeit bioaktiver Glucocorticoide geht mit gesteigerten Proteinverlusten einher (Brillon et al. 1995; Darmaun et al. 1988). Cortisol hat dabei einen Anteil von 95% an der gesamten GC-Aktivität (Guyton A.C. and Hall J.E. 2000).

Der Fokus der vorliegenden Arbeit liegt auf der Regulation des Proteinstoffwechsels durch die Glucocorticoide und das Stoffwechselhormon IGF-1, daher werden andere Kontrollmechanismen des Proteinstoffwechsels an dieser Stelle nicht näher erläutert.

Über die Primärbeeinflussung der o.g. Regulationsmechanismen hinaus wirken zusätzlich metabolische Substrate wie Aminosäuren, Glucose, Triglyceride, Fettsäuren und Ketonkörper sowie physikalische Aktivität und diverse Krankheitsbilder auf den Proteinstoffwechsel. Auch die Azidose nimmt Einfluss auf das homöostatische Gleichgewicht des Proteinstoffwechsels. Der aktuelle Stand der Forschung diesbezüglich wird im folgenden Kapitel dargestellt.

2.3.3 Einfluss des Säure-Basen-Status' auf den Proteinstoffwechsel

Verluste von Muskelmasse, wie im Falle der „Nichtnutzungs“-Atrophie der Weltraumfahrer oder der altersbegleitenden Sarkopenie, können laut Frassetto et al. (Frassetto et al. 2008) durch eine NaCl-induzierte metabolische Azidose verstärkt werden. Dieser Zusammenhang wird im Folgenden dargestellt.

Bei akuter Urämie (*acute renal failure*, ARF) ebenso wie bei chronisch niereninsuffizienten (*chronical renal failure*, CRF) Patienten kommt es zu massiven Veränderungen des Proteinstoffwechsels, welche eine katabole Stoffwechselsituation zur Folge haben (Lim and Kopple 2000; Franz and Horl 1997; Garibotto et al. 1994). Die Proteinverluste unbehandelter

CRF-Patienten betragen bis zu 120 g/d (Lim and Kopple 2000), welche im Kindesalter zu Wachstumsretardierungen führen (Santos and Chan 1986; Nash et al. 1972). Diese Proteinverluste sind multikausalen Ursprungs. Dennoch ist man sich inzwischen einig, dass auch die charakteristische metabolische Azidose der ARF/CRF ursächlich an diesen beteiligt ist (Mehrotra et al. 2003). Daher setzt man seit ca. 50 Jahren alkalische Mineralsalze zur Korrektur der metabolischen Azidose ein: Die vollständige endogene Oxidation des respektiven, durch H^+ protonierten Anions und die Erhöhung des extrazellulären Basenpools durch die Bindung aus verbleibendem Kation und HCO_3^- haben einen Netto-basenproduzierenden Effekt (s. Abbildung 2.1) (Remer 2001).

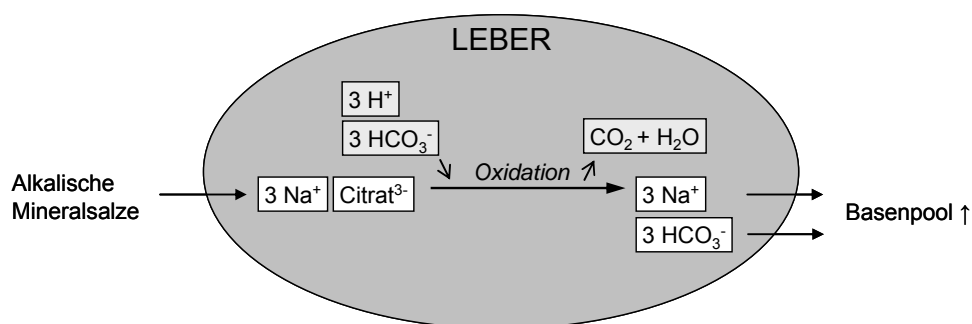


Abbildung 2.1 Metabolisierung organischer Anionen alkalischer Mineralsalze in der Leber nach Remer (Remer 2001)

So hat die Supplementation alkalischer Mineralsalze sowohl bei ARF/CRF-Patienten (Lofberg et al. 2006; Movilli et al. 2001; Movilli et al. 1998; Reaich et al. 1993) als auch im Tiermodell einen Ausgleich des Säure-Basen-Status erzeugt (Kiwull-Schone et al. 2008; Sabboh et al. 2006; Sabboh et al. 2005). Darüber hinaus hat diese Korrektur bei Patienten den Proteinkatabolismus reduziert: Eine Abnahme des skelettalen Proteinabbaus, der Stickstoffausscheidung (Lofberg et al. 2006; Williams et al. 1991a; Papadoyannakis et al. 1984), des Gesamtkörper-Proteinstoffwechsels (Movilli et al. 1998; Graham et al. 1997; Graham et al. 1996; Reaich et al. 1993), ein Anstieg der Albuminkonzentration im Plasma (Movilli et al. 1998) sowie eine Normalisierung des präpubertären Wachstums (McSherry and Morris, Jr. 1978) wurden diesbezüglich dokumentiert. Dies interpretiert man als Hinweis auf den hohen Stellenwert der metabolischen Azidose bei Proteinverlusten niereninsuffizienter Patienten. Unterstützend haben Ergebnisse aus Tier- und *in vitro*-Versuchen gezeigt, dass

- die Stickstoffexkretion azidotischer Ratten (But-pH: $7,14 \pm 0,01$) 43% höher ist als diejenigen von entsprechenden Kontroll-Ratten (But-pH: $7,37 \pm 0,01$) (Williams et al. 1991b; May et al. 1986).

- die Aktivität des Schlüsselenzyms zum Abbau der verzweigtkettigen Aminosäuren (*branched-chain amino acids*, BCAA) Valin, Leucin und Isoleucin bei metabolischer Azidose (Blut-pH: $7,13 \pm 0,03$) um 79% erhöht ist. Daher steigen Decarboxylierung und Transaminierung der BCAA an und die Konzentration im Muskel sinkt. Die BCAA machen 18% des Muskelproteins aus (May et al. 1987a).
- die metabolische Azidose intrazellulär zu einer Aktivierung des Ubiquitin-Proteasom-Systems (UPS) führt. Dieses baut den Hauptanteil zellulärer Proteine, darunter myofibrilläre und kurzlebige regulatorische Proteine, ab (Bailey et al. 1996; Mitch et al. 1994).
- die GC-Aktivität azidotischer Ratten (Blut-pH: $7,14 \pm 0,01$) erhöht ist. Dies scheint maßgeblich zur katabolen Wirkung der Azidose beizutragen, da diese nach Adrenalectomie nur sichtbar ist, wenn subkutan GC injiziert werden (May et al. 1986).

Über den Einfluss des Säure-Basen-Status auf die Proteinbiosynthese besteht weniger Klarheit. Ergebnisse aus Tierversuchen und *in vitro*-Experimenten sind widersprüchlich (Caso et al. 2004; England et al. 1991; May et al. 1987b; May et al. 1986). Humanstudien von Ballmer et al. (Ballmer 1997) und Kleger et al. (Kleger et al. 2001) zeigen jedoch einstimmig, dass es im humanen Organismus bei akuter metabolischer Azidose zu einer unmittelbaren Hemmung der muskulären und einer verzögerten Hemmung der viszeralen Proteinbiosynthese kommt.

Die überschüssigen Aminosäuren aus dem erhöhten Katabolismus werden bei metabolischer Azidose in Form von Glutamin aus dem Muskel freigesetzt, von der Niere extrahiert und dort katabolisiert (Curthoys and Watford 1995; Welbourne 1986). Dazu werden in den Zellen des proximalen Tubulus die Schlüsselenzyme des Abbaus von Glutamin zu α -Ketoglutarat auf Transkriptionsebene aktiviert (Curthoys and Gstraunthaler 2001; Hughey et al. 1980). Somit steigen dort die Gluconeogenese, die apikale H^+ - und NH_3 - und die basolaterale HCO_3^- -Abgabe sowie die Ammoniogenese (für weitere Informationen s. (Karim et al. 2006; Curthoys and Gstraunthaler 2001)). Wie in Kapitel 2.3.1 beschrieben, erleichtert die vermehrte Sekretion von NH_3 in dieser Stoffwechselsituation zugleich die Protonenelimination.

Die Hinweise auf das katabole Potential der metabolischen Azidose basieren maßgeblich auf Tierversuchen und Untersuchungen an Patienten. Die Übertragbarkeit dieser Erkenntnisse auf den gesunden humanen Organismus ist zwar prinzipiell eingeschränkt, allerdings werden sie durch Studien an gesunden Versuchspersonen gestützt: Reaich et al. (Reaich et al. 1992) beobachteten an sieben gesunden Probanden eine Steigerung des Proteinabbaus und

der Aminosäureoxidation bei NH_4Cl -induzierter metabolischer Azidose (Blut-pH: $7,35 \pm 0,03$; $[\text{HCO}_3^-]$: 18 ± 4 mEq/l). Auch die Stickstoffausscheidung der gesunden Versuchspersonen von Ballmer et al. (Ballmer et al. 1995) war bei NH_4Cl -induzierter metabolischer Azidose (Blut-pH: $7,303 \pm 0,053$; $[\text{HCO}_3^-]$: $15,1 \pm 1,6$ mEq/l) erhöht. Die Autoren vermuten eine verminderte IGF-1-Aktivität als Ursache. Diese kann ursächlich an den Kaskadenreaktionen einer verminderten Proteinbiosynthese und einer erhöhten Proteolyse beteiligt sein (für weitere Informationen s. (Rajan and Mitch 2008a).

Zusammenfassend stellt die metabolische Azidose einen Risikofaktor für Proteinverluste dar. Inwiefern bereits die latente metabolische Azidose mit Veränderungen des Säure-Basen-Status innerhalb des Normbereiches einen katabolen Einfluss auf den Proteinstoffwechsel hat, war bislang nur in geringem Maße Gegenstand der Forschung. Allerdings vermutet man, dass auch geringfügige Veränderungen des Säure-Basen-Status katabol wirken, da die Supplementation alkalischer Mineralsalze bereits bei diätinduzierter latenter metabolischer Azidose eine antikatabole Wirkung hatte:

- Frassetto et al. (Frassetto et al. 1997) senkten durch die Ergänzung der „*western diet*“ mit 60 – 120 mmol Kaliumbicarbonat die Stickstoffausscheidung postmenopausaler Frauen.
- Ceglia et al. (Ceglia et al. 2009) zeigten in einer Interventionsstudie, dass die Supplementation von 90 mmol KHCO_3 bei erhöhter Säurelast der Diät durch eine gesteigerte Proteinaufnahme (0,5 vs. 1,5 g/kgKG/d) antikatabol wirkt. Die Autoren vermuten eine Mediation durch IGF-1.

Zusammenfassend kann die hohe NaCl -Zufuhr während des Aufenthaltes im All aufgrund potentieller Veränderungen des Säure-Basen-Status einen zusätzlichen Risikofaktor für Verluste von Protein- und damit Muskelmasse darstellen. Dies gilt ebenso für inaktive und/oder geriatrische Bevölkerungsgruppen, die zu einer hohen NaCl -Zufuhr neigen. Daher ergeben sich für die vorliegende Arbeit folgende Ziele und Fragestellungen:

2.4 Ziel der Arbeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung des Einflusses von Natriumchlorid (NaCl) auf den Säure-Basen-Status und den Proteinstoffwechsel gesunder Versuchspersonen.

Die Fragestellungen in diesem Zusammenhang lauten:

- I. Führt eine hohe NaCl-Zufuhr während HDTBR zur latenten metabolischen Azidose?
- II. Werden immobilisationsbedingte Proteinverluste bei hoher NaCl-Zufuhr verstärkt?
- III. Kann eine NaCl-induzierte latente metabolische Azidose durch die gleichzeitige Gabe alkalischer Mineralsalze kompensiert werden?
- IV. Kann die Supplementation alkalischer Mineralsalze mögliche NaCl-induzierte Proteinverluste verringern?

Diese Fragestellungen sollten im Rahmen von zwei interdisziplinären Interventionsstudien (Salty Life 7-(I und II) und Salty Life 8-(III und IV)) Studie bearbeitet werden.

3 Material und Methoden

Bei den im Folgenden beschriebenen Interventionsstudien handelt es sich um zwei streng kontrollierte metabolische Bilanzstudien, die stationär in der arbeitsmedizinischen Simulationsanlage (vgl. 3.2) im Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt (DLR) durchgeführt worden sind. Die erste Studie (Salty Life 7) wurde im Zeitraum September 2005 bis April 2006 durchgeführt, die zweite Studie (Salty Life 8) im Juli und August 2007. Beide Studien sind Bestandteil einer Serie von Interventionsstudien, deren vorrangiges Ziel eine Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher Natriumzufuhren auf den Flüssigkeitshaushalt, den Calcium- und Knochenstoffwechsel ist.

In der **Salty Life 7-Studie** wurde integrativ der Einfluss einer hohen Natriumzufuhr während Bettruhe in 6° Kopftieflage (*head-down-tilt bed rest*, HDTBR) auf das kardiovaskuläre System, den Calcium- und Knochen-, Energie- und Muskelstoffwechsel, psycho-neuro-gastrointestinale Parameter, das Plasma- sowie Intra- und Extrazellulärvolumen, die Natriumspeicherung in der Haut, den Wasser- und Elektrolythaushalt sowie den Säure-Basen-Status und den Stickstoffhaushalt untersucht.

Darauf aufbauend wurde im Rahmen der **Salty Life 8-Studie** integrativ untersucht, inwiefern eine Supplementation alkalischer Mineralsalze die Wirkung einer hohen Natriumzufuhr auf das kardiovaskuläre System, den Calcium- und Knochenstoffwechsel, den Energiestoffwechsel im Allgemeinen sowie denjenigen des Muskel im Speziellen, die Natriumspeicherung in der Haut, den Wasser- und Elektrolythaushalt sowie den Säure-Basen-Status und den Proteinstoffwechsel verändert.

Da die kontrollierte Natriumzufuhr in beiden Studien überwiegend in Form von Natriumchlorid (NaCl) erfolgte, wurden diese als geeignet zur Untersuchung des Einflusses von NaCl auf Säure-Basen-Status und Proteinstoffwechsel beurteilt.

Beide Studien wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Nordrhein begutachtet und für ethisch unbedenklich befunden.

3.1 Studiendesigns

3.1.1 Salty Life 7: variierende NaCl-Zufuhr während HDTBR

Die Salty Life 7-Studie bestand aus zwei 21-tägigen Studienteilen, die in jeweils drei Studienphasen unterteilt waren: eine viertägige Adaptationsphase (Studientag -4 bis -1), eine 14-tägige Interventionsphase in HDTBR (Studientag 1 bis 14) und eine dreitägige Erholungsphase (Studientag +1 bis +3). Während der Adaptations- und Erholungsphasen erhielten die Probanden eine NaCl-Zufuhr von 2,6 mmol/kg Körpergewicht (KG) pro Tag (d) und waren „gehfähig“. Im Folgenden wird dieser Zustand aus dem englischen (*ambulatory* = gehfähig) abgeleitet und als ambulant bezeichnet. In der Interventionsphase eines Studienteils erhielten die Probanden eine sehr hohe NaCl-Zufuhr von 7 mmol NaCl/kgKG/d (bei 75 kg: 30 g NaCl) zu einer alkalisierenden Basisdiät (0,7 mmol NaHCO₃/kgKG/d) und in der Interventionsphase des anderen Studienteils eine niedrige NaCl-Zufuhr von 0,7 mmol NaCl/kgKG/d (bei 75 kg: 3 g NaCl). Letzterer dient in dieser Arbeit als Kontrolle. Die beiden Studienteile wurden von den Probanden im randomisierten *crossover design* durchlaufen (s. Abbildung 3.1). Zwischen den beiden Studienteilen lag eine Readaptationszeit von sechs Monaten.

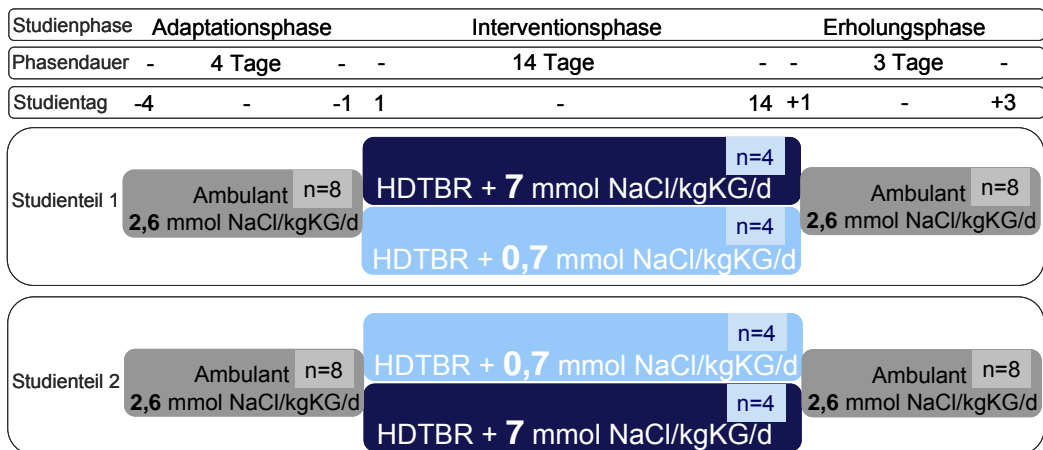


Abbildung 3.1 Studiendesign der Salty Life 7-Studie

Betruhe in 6° Kopftieflage

Während der Interventionsphasen waren die Probanden kontinuierlich in 6° Kopftieflage immobilisiert (Abbildung 3.2). D.h. alle Aktivitäten, wie beispielsweise duschen, lesen, essen, Urin- und Fäzesabgabe und die morgendliche Wiegeprozedur fanden in dieser Körperposition statt. Zum Essen und Waschen durfte der Kopf auf den Ellbogen aufgestützt werden. Zur Kontrolle der Befolgung der vorgeschriebenen Körperposition wurden die

Probanden in den Interventionsphasen per Video überwacht. Um ein Wundliegen zu vermeiden, wurden die Probanden aufgefordert ihre Liegeposition regelmäßig zu wechseln. An je drei Tagen der HDTBR-Phasen fand eine physiotherapeutische Anwendung ohne Muskelaufbautraining statt.

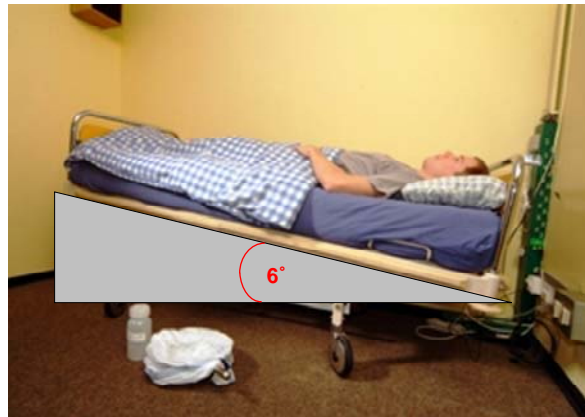


Abbildung 3.2 Modell der 6° Kopftieflage zur Simulation von physiologischen Veränderungen in Schwerelosigkeit

Während der Adaptations- und Erholungsphasen konnten sich die Versuchspersonen frei im Stoffwechsellabor bewegen, sportliche Aktivitäten waren jedoch nicht erlaubt.

3.1.2 Salty Life 8: KHCO_3 -Supplementation bei hoher NaCl -Zufuhr

Die Salty Life 8-Studie bestand aus zwei 16-tägigen Studienteilen, die jeweils in eine fünftägige Adaptationsphase (Studientag -5 bis -1), eine zehntägige Interventionsphase (Studientag 1 – 10) und eineinhalb Tage stationärer Erholung (+1 und +2) untergliedert war (s. Abbildung 3.3). Am Morgen des Tages +2 verließen die Probanden das Stoffwechsellabor nach der morgendlichen Blutabnahme. Die Versuchspersonen konnten sich in allen Studienphasen frei im Stoffwechsellabor bewegen; sportliche Aktivitäten waren nicht erlaubt. Die Intervention bestand aus einer hohen NaCl -Zufuhr (7,3 mmol $\text{NaCl}/\text{kgKG}/\text{d}$), die in einem Studienteil mit dem alkalischen Mineralsalz Kaliumbicarbonat (KHCO_3) ergänzt wurde. Dieses wurde drei Mal täglich in Dosen von je 30 mmol, gelöst in Leitungswasser, mit der Mahlzeit appliziert. Der andere Studienteil diente als Kontrolle. Die beiden Studienteile wurden im randomisierten *crossover design* absolviert. Zwischen den beiden Studienteilen lag eine Readaptationszeit von dreieinhalb Wochen.

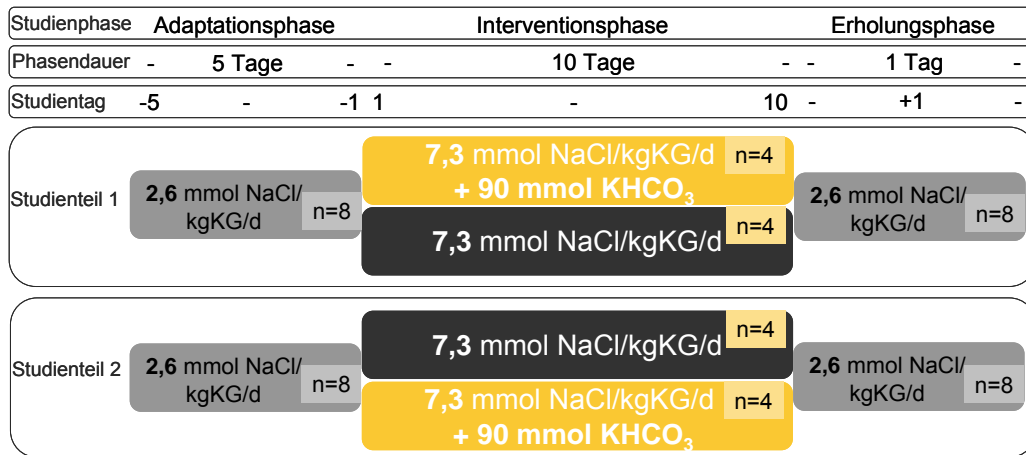


Abbildung 3.3 Studiendesign der Salty Life 8-Studie

In beiden Studien waren die entsprechenden Studienteile in Bezug auf Experimentablauf, Umgebungsbedingungen und Nährstoffzufuhr (s. 3.4) identisch.

3.2 Metabolisches Labor

Die Arbeitsmedizinische Simulationsanlage des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin im DLR (AMSAN, Abbildung 3.4) ist ein Stoffwechsellabor mit acht abgetrennten Schlaf-, drei Badezimmern, einem Aufenthaltsraum mit Wohn- und Essbereich, vier Untersuchungszimmern und einer metabolischen Bilanzküche zur Verpflegung der Probanden.

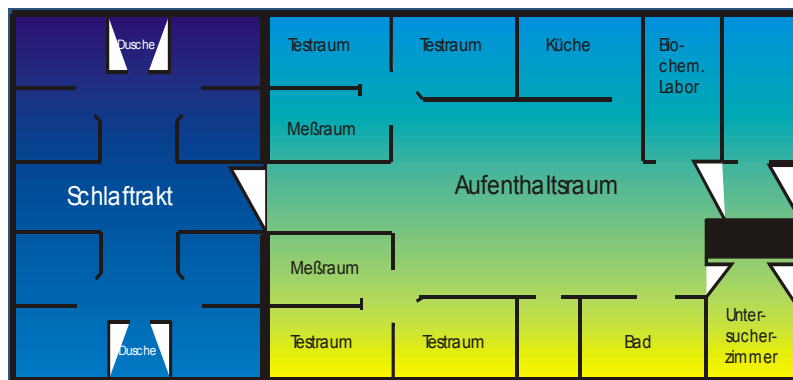


Abbildung 3.4 Grundriss der arbeitsmedizinischen Simulationsanlage des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin im DLR



Abbildung 3.5 Schlaftrakt der arbeitsmedizinischen Simulationsanlage des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin im DLR

Temperatur und Luftfeuchte wurden in beiden Studien konstant gehalten (Salty Life 7: Temperatur: $22,6 \pm 0,9^\circ\text{C}$, relative Luftfeuchte: $58,6 \pm 5,6 \%$; Salty Life 8: Temperatur: $22,7 \pm 1,9^\circ\text{C}$, relative Luftfeuchte: $63,2 \pm 3,7 \%$). Während der Studien durften die Probanden das Labor nicht verlassen.

3.3 Probandenkollektive

3.3.1 Rekrutierung und Screening

Für beide Studien wurden jeweils acht männliche Probanden sowie drei männliche *back up*-Probanden im Alter zwischen 19 und 35 Jahren mit einem Körpergewicht von 75 ± 10 kg und einer Körpergröße von 180 ± 10 cm gesucht. Alle Interessenten haben vor Aufnahme in die Studie ein medizinisches und psychologisches Screening durchlaufen.

Medizinisches Screening

Im Rahmen des medizinischen Screenings wurden

- eine klinisch-chemische Untersuchung (Kreatinin, Harnstoff, Eiweiß, Albumin, Serum Glutamat Oxalacetat Transaminase, Serum Glutamat Pyruvat Transaminase, γ -Glutamyl Transferase, Lipase, alkalische Phosphatase, Elektrolyte, Calcium, Glucose),
- eine Hämatologie (kleines Blutbild, Blutsenkung),
- eine Urinuntersuchung (Glucose, Eiweiß, Urobilinogen),
- ein Ruhe- und ein Belastungs-EKG,
- eine Anamnese,
- ein HIV- und Hepatitis-Test sowie
- ein Nikotin- und Drogenschnelltest im Urin (Mahasan ®) durchgeführt.

Zusätzlich wurde für die Salty Life 7-Studie das Thromboserisiko anhand eines Thrombophilie-Screenings untersucht.

Ausschlusskriterien

Neben einer Abweichung von den Normwerten der unter Punkt 1 – 4 genannten Untersuchungen des medizinischen Screenings führten folgende Faktoren zum Ausschluss aus den Studien: Drogen-, Medikament- oder Alkoholabusus (regelmäßiger Genuss von mehr als 20 – 30 g Alkohol/d), Rauchen, Hyperlipidämie, Adipositas, Nierenerkrankungen, rheumatische Erkrankungen, Metallimplantate und Diabetes mellitus. Weiterhin wurden Interessenten ausgeschlossen, die innerhalb der letzten 30 Tage vor Beginn der Studien an einer anderen klinischen Studie teilgenommen haben, innerhalb des letzten Jahres vor Studienbeginn Knochenbrüche erlitten haben und/oder innerhalb der letzten drei Monate vor Studienbeginn Blut gespendet hatten. Für die Salty Life 7-Studie wurden aufgrund der Immobilisation Interessenten mit erhöhtem Thromboserisiko ausgeschlossen.

Psychologisches Screening

Das psychologische Screening bestand aus zwei Screeningphasen. Vor der medizinischen Einschlussuntersuchung fand zunächst eine Vorauswahl anhand psychologischer Fragebögen (Freiburger Persönlichkeitsinventar und Frankfurter Selbstkonzeptskalen) statt. Im Anschluss an die medizinische Selektion folgten persönliche Gespräche mit den Psychologen des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin, Abteilung Luft- und Raumfahrtpsychologie. Hier wurden die Interessenten nach psychologischen Gesichtspunkten mit konkretem Bezug auf das Studiendesign beurteilt.

3.3.2 Anthropometrische Daten und Aktivitätslevel der Probanden

In Tabelle 3.1 und Tabelle 3.2 sind Alter, Gewicht, Größe und *Body-Mass-Index* (BMI) der ausgewählten Probanden beider Studien zusammengestellt.

Tabelle 3.1 Anthropometrische Daten der Probanden der Salty Life 7-Studie als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD)

	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg/m ²)
MW	26	179,9	78,5	24,3
SD	3	3,1	4,1	1,1

Tabelle 3.2 Anthropometrische Daten der Probanden der Salty Life 8-Studie als MW \pm SD

	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg(m ²))
MW	26	178,6	75,0	23,6
SD	4	5,7	3,6	1,6

Alle Probanden gingen vor Studienstart einer überwiegend sitzenden Tätigkeit nach. Anstrengende Freizeitaktivitäten bzw. sportliche Betätigung von 30 – 60 Minuten fanden max. vier Mal pro Woche statt.

Einverständniserklärung

Die Probanden wurden mündlich und schriftlich über mögliche Risiken der Untersuchungen aufgeklärt und gaben vor Studienbeginn schriftlich ihr Einverständnis ab.

3.4 Diät

Während der gesamten Studienzeiträume erhielten die Probanden eine adäquate, standardisierte und strikt kontrollierte Nährstoffzufuhr. Die Basisdiät entsprach einer Mischkost, in der die Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE 2000) berücksichtigt waren.

Energiezufuhr

Der Grundumsatz wurde jeweils am ersten Studientag mittels indirekter Kalorimetrie (Deltatrac II MBH 200 Metabolic Monitor, Datex Ohmeda, Madison, USA) gemessen. Die Gesamtenergieaufnahme wurde individuell für ein Aktivitätslevel mit leichtem Energieniveau in den ambulanten Phasen sowie mit einem Energieniveau für Bettruhepatienten für die Interventionsphasen der Salty Life 7-Studie berechnet (Noack 1999). Der physikalische Aktivitätslevel für ein leichtes Energieniveau beträgt 1,4, der für Bettruhepatienten 1,1 (DGE 2000). Zusätzlich wurden 10% des Gesamtenergieumsatzes für den Beitrag zur nahrungsinduzierten Thermogenese addiert (Noack 1999).

Der Gesamtenergieumsatz wurde dementsprechend wie folgt berechnet:

$$\text{Gesamtenergieumsatz (kcal/d)} = \text{BMR} * \text{PAL} + \text{TEF}$$

wobei:

BMR = Grundumsatz (*basal metabolic rate*)

PAL = Physikalischer Aktivitätslevel (*physical activity level*)

TEF = Nahrungsinduzierte Thermogenese (*thermic effect of feeding*)

Nährstoffzufuhr

In beiden Studien wurde die Zufuhr folgender Nährstoffe konstant gehalten:

- Protein: 1,3 g/kgKG,
- Fett: maximal 30% der Gesamtenergieaufnahme,
- Kohlenhydrate: verbleibende Energie (50 – 55% der Gesamtenergieaufnahme),
- Wasser in Form von Getränken und in Lebensmitteln: 40 ml/kgKG,
- Calcium: 1000 – 1150 mg/d,
- Kalium 3 – 4,5 g/d.

Da Vitamin D₃ ein wichtiger Einflussfaktor im Knochen- und Muskelstoffwechsel ist (Vieth et al. 2007), kann ein unterschiedlicher Versorgungsgrad eine Störvariable für Untersuchungen beider Systeme darstellen. Aus diesem Grund erfolgte eine standardisierte Supplementation von 400 IU Vitamin D₃ (Dekristol 400 I.E., Jenapharm, Jena, Deutschland). Ein Einfluss durch UV-Exposition ist in beiden Studien ausgeschlossen, da das AMSAN ausschließlich über künstliche Lichtquellen verfügt.

Die Diät enthielt kein Koffein, Methylxanthin und/oder Alkohol.

Erstellung der Menüpläne

Die täglichen Menüpläne wurden entsprechend der o.g. Vorgaben individuell für jeden Probanden mit der Software PRODI 4,5 LE (Kluthe 2001) erstellt. PRODI enthält eine umfassende Datenbank aus den Nährstoffanalysen des Bundeslebensmittelschlüssels (1999) und des Souci, Fachmann, Krauts (2000). Für unverarbeitete Lebensmittel wurden diese Analysewerte aus der PRODI-Datenbank übernommen.

Zusätzlich wurde die PRODI-Datenbank um Nährstoffangaben folgender Lebensmittel ergänzt:

- Die Nährwertangaben der verarbeiteten Lebensmittel wurden vom Hersteller (Fa. apetito AG, Rheine, Deutschland) zur Verfügung gestellt.
- Lebensmittel mit einem NaCl-Gehalt von mehr als 40 mmol/100g bzw. stark schwankenden NaCl-Gehalten, wie beispielsweise Schinken und Käse, wurden in einem lebensmittelchemischen Labor (Analytis Gesellschaft für Laboruntersuchungen mbH, Köln, Deutschland) analysiert.
- Brot wurde im Vorfeld der Studie in der metabolischen Bilanzküche gebacken. Alle Zutaten wurden mit einer Genauigkeit von 0,1 mg abgewogen, so dass der Natrium- und Chloridgehalt sowie Wasserverluste genau berechnet werden konnten.

Zubereitung der Mahlzeiten

Alle Mahlzeiten und Getränke wurden – entsprechend der individuellen Menüpläne – von geschultem Personal in der metabolischen Bilanzküche des AMSAN mit einer Genauigkeit von 0,1 mg auf einer Präzisionswaage (Sartorius Typ BP 2100, Göttingen, Deutschland) abgewogen (s. Abbildung 3.6). Die NaCl-Menge wurde mit einer Genauigkeit von 0,01 mg abgewogen.



Abbildung 3.6 Abwiegen von Getränken und Mahlzeiten in der metabolischen Bilanzküche des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin im DLR

Die Hauptmahlzeiten wurden um 8.00 Uhr, 13.00 Uhr und 19.00 Uhr gereicht. Kleinere Zwischenmahlzeiten nahmen die Probanden um 10.30 Uhr, 16.00 Uhr und 21.30 Uhr ein. Um 22.30 Uhr erhielten die Probanden ein Getränk (300 ml). Die Probanden wurden angewiesen ihre Mahlzeiten vollständig zu verzehren. Zur Kontrolle fand die Einnahme der Mahlzeiten in Anwesenheit des Aufsichtspersonals statt. Abweichungen vom Diätplan wurden dokumentiert und in den Auswertungen berücksichtigt.

Supplementation von Kaliumbicarbonat (Salty Life 8)

Je 30 mmol des alkalischen Mineralsalzes Kaliumbicarbonat (KHCO_3) wurden in Form von Brausetabletten (Inhaltsstoffe: Citronensäure, Kaliumhydrogencarbonat, Inulin, Natrium-cyclamat, Aroma, Stärke, Calciumcarbonat, Acesulfam-K, Siliciumdioxid) der Firma Krüger (Bergisch-Gladbach, Deutschland) zu den drei Hauptmahlzeiten in 100 ml Leitungswasser gelöst gegeben. Vorversuche im Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin haben gezeigt, dass der Zeitpunkt der Einnahme (vor, während oder nach dem Essen) die Blutgase als Parameter des Säure-Basen-Haushalts nicht zu beeinflussen scheint (Böhme 2008). Die Einnahme erfolgte daraufhin aufgrund der besseren Verträglichkeit des Salzes während der Mahlzeiten.

3.5 Probenmaterial

3.5.1 Kapillarblut

Nüchtern

Die Abnahme des Kapillarbluts zur Blutgasanalyse (s. 3.6.1.1) fand an den in Tabelle 3.3 aufgeführten Studientagen zwischen 07.15 Uhr und 07.45 Uhr nüchtern statt. Dazu wurden ca. 75 μl Kapillarblut mit Hilfe einer Lanzette aus der Fingerkuppe entnommen und unmittelbar analysiert. Die entsprechende Hand wurde zur Arterialisierung des Kapillarblutes vor der Messung mit Hilfe eines Kirsch kernkissens erwärmt. Die Probe durfte keine Luftblasen enthalten und wurde ausschließlich von geübtem Personal entnommen.

Tabelle 3.3 Übersicht über Abnahmezeitpunkte für Voll- und Kapillarblut in Salty Life 7- und 8-Studie

	Abnahmezeitpunkte für venöses und Kapillarblut	
	Salty Life 7	Salty Life 8
Studientage	-2, -1 (Adaptationsphasen), 2, 5, 7, 10, 12, 14 (Interventionsphasen)	-3, -1 (Adaptationsphasen), 3, 6, 7, 8, 10 (Interventionsphasen)

Postprandial (Salty Life 8)

In der Salty Life 8-Studie wurden an den Studientagen 3 und 8 (Interventionsphase) zu den Blutgasanalysen im Nüchternblut zusätzlich postprandiale Blutgasanalysen im Anschluss an das Mittagessen durchgeführt. Anhand dieser sollten die unmittelbaren Einflüsse der hohen NaCl-Zufuhr bzw. der hohen NaCl-Zufuhr mit gleichzeitiger KHCO_3 -Supplementation auf den Säure-Basen-Status untersucht werden.

Zur *Baseline*-Datenerhebung wurde den Probanden vor dem Mittagessen Kapillarblut abgenommen (Prozedur zur Entnahme des Kapillarbluts s. oben). Im Anschluss wurde die Mahlzeit innerhalb von 15 Minuten verzehrt. Die Komposition der Mahlzeiten und die NaCl-Zufuhr (30 – 33% der Gesamtzufuhr) waren an den entsprechenden Studientagen identisch. 60, 90, 120 und 150 Minuten nach Start der Mahlzeit wurde den Probanden wiederholt Kapillarblut entnommen.

3.5.2 Serum

An den in Tabelle 3.3 aufgeführten Studientagen wurde den Probanden zwischen 07.00 Uhr und 07.30 Uhr nüchtern und in liegender Körperposition Blut abgenommen. Die Blutabnahmen erfolgten durch einen einmaligen Einstich in eine periphere Vene des Unterarmes mittels Butterfly-System (Sarstedt®). Zur Abnahme wurden Serum-Monovetten verwendet (Sarstedt®). Diese wurden 30 Minuten nach Blutabnahme bei 3000 rpm und 4°C zentrifugiert. Die Proben wurden aliquotiert und anschließend bis zur Analyse bei -20°C (Elektrolyte) oder -80°C (IGF-1) gelagert.

3.5.3 24h-Urin

Während des gesamten stationären Aufenthaltes wurde kontinuierlich in 24h-Sammelperioden Urin gesammelt. Beginn der Sammlung war um 07.00 Uhr des ersten stationären Tages, wobei der erste Morgenurin verworfen wurde. Die Sammelperioden endeten mit dem Morgenurin des jeweils letzten Studientages. Der Urin einer Sammelperiode wurde bis zur letzten Urinabgabe der entsprechenden Periode um 07.00 Uhr des Folgetages bei 4°C dunkel gelagert, anschließend gepoolt und aliquotiert. Die Aliquots der 24h-Urine wurden bis zur Analyse von freiem Cortisol und Cortison, der Netto-Säureausscheidung und der Stickstoffausscheidung bei -20°C gelagert.

3.6 Bestimmungsmethoden

3.6.1 Parameter des Säure-Basen-Status

3.6.1.1 pH-Wert, Pufferbasen und Gase im Kapillarblut

Der pH-Wert sowie der Partialdruck von CO₂ und O₂ (pCO₂ bzw. pO₂) wurden mittels Blutgasanalyse direkt im Anschluss an die Abnahme des Kapillarbluts (s. 3.5.1) mit einem automatisierten Gerät (ABL 5, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) gemessen. Der erforderliche Hämoglobinwert und die Körpertemperatur wurden am entsprechenden Studientag im Vorfeld bestimmt. Die aktuelle Bicarbonatkonzentration ([HCO₃⁻]) sowie der aktuelle Basenüberschuss (*base excess*, BE) werden auf Basis der Henderson-Hasselbalch-Gleichung (Guyton and Hall 2000a) automatisch berechnet. Letztere werden als Marker für die Konzentration systemischer Pufferbasen des Extrazellularraums genutzt. Dabei stellt der BE die Abweichung vom Normwert der Gesamtpufferbasen (48 mmol/l) dar (Deetjen 1994) und wird aufgrund des Beitrags der [HCO₃⁻] zur Pufferung von H⁺-Ionen im Extrazellularraum gewöhnlich von dieser gespiegelt. Einen Mehrbetrag an Gesamt-Pufferbasen bezeichnet man als Basenüberschuss, einen Minderbetrag als Basendefizit. Die Referenzbereiche der analysierten und berechneten Parameter sind wie folgt:

pH: 7,36 – 7,44 (Morlion 1999)

pO₂: 80 – 100 mmHg (Malley 2005)

pCO₂: 32 – 46 mmHg (Külpmann et al. 2002)

[HCO₃⁻]: > 24 mmol/l (Guyton and Hall 2000a)

Laut Herstellerangabe liegt die Tag-zu-Tag-Variation des Gerätes bei 0,003 für den pH-Wert, bei 0,6 mmHg für pCO₂ und bei 1,0 mmHg für pO₂. Pro Messzeitpunkt wurden zwei Bestimmungen durchgeführt, aus welchen der Mittelwert gebildet und für die Auswertungen genutzt wurde. Bei Überschreitung der zuvor für die einzelnen Messparameter festgelegten Toleranzbereiche wurde eine dritte Bestimmung durchgeführt.

3.6.1.2 Anionenlücke im Blut

Die Anionenlücke ist ein berechneter Parameter, welcher zur klinischen Differentialdiagnostik bei azidotischen Störungen des Säure-Basen-Haushaltes eingesetzt wird. Sie schätzt das Verhältnis zwischen bestimmbar und nicht bestimmbar Ionen im Blut. Zur Wahrung der Elektroneutralität müssen einer bestimmten Menge Kationen die gleiche Menge Anionen gegenüberstehen. Routinemäßig werden jedoch nicht alle Ionen im Körper bestimmt. Da die

Summe der nicht berücksichtigten Anionen (z.B. Phosphat, Laktat, Pyruvat) größer ist als die der nicht berücksichtigten Kationen (Calcium, Magnesium), wird die Differenz der Konzentrationen analysierter Kationen im Serum (hier: Natrium ($[\text{Na}^+]$) und Kalium ($[\text{K}^+]$)) und Anionen (Chlorid ($[\text{Cl}^-]$) und Bicarbonat ($[\text{HCO}_3^-]$)) als Anionenlücke bezeichnet. Der Richtwert dieser liegt bei 8 – 20 mmol/l (Külpmann et al. 2002). In der Differentialdiagnostik der metabolischen Azidose unterscheidet man die metabolische Azidose mit vergrößerter Anionenlücke von der hyperchlorämischen metabolischen Azidose mit normaler Anionenlücke.

Die Anionenlücke wurde wie folgt berechnet:

$$\text{Anionenlücke (mmol/l)} = ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) - ([\text{HCO}_3^-] + [\text{Cl}^-])$$

Die erforderlichen Konzentrationen der Ionen wurden wie folgt bestimmt:

- Natrium- und Kaliumkonzentrationen im Serum wurden mittels Flammenphotometrie (Elektrolytautomat EFOX 5053, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) bestimmt. Die Messbereiche für Natrium und Kalium im Serum liegen bei 80 – 180 mmol/l bzw. 1,0 – 9,99 mmol/l. Laut Herstellerangaben liegt der Variationskoeffizient für Natrium und Kalium im Serum bei <1%. Die Proben wurden als Duplikate analysiert. Zur Auswertung wurde der Mittelwert dieser Analysen genutzt.
- Die Chloridkonzentration im Serum wurde wie unter 3.6.1.3 beschrieben und die Bicarbonatkonzentration im Rahmen der Blutgasanalyse ermittelt (3.6.1.1).

3.6.1.3 Chloridkonzentration im Serum

Die Chloridkonzentration im Serum wurde ebenfalls zur Differentialdiagnostik der metabolischen Azidose analysiert (s. 3.6.1.2). Nach Hogan und Wane (Hogan and Wane 2003) liegt der Normbereich dieser bei 95 – 105 mmol/l.

Die Chloridkonzentration im Serum wurde mit einer ionenselektiven Elektrode des automatischen Analysesystems COBAS Integra 400 (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) bestimmt. Der Messbereich liegt bei 20 – 250 mmol/l. Der Variationskoeffizient in Serie liegt laut Herstellerangabe für eine Messreihe aus 20 Kontrollen (99 mmol/l) bei 0,46%. Die Proben wurden als Duplikate analysiert. Zur Auswertung wurde der Mittelwert dieser Analysen genutzt.

3.6.1.4 Potentielle renale Säurelast der Diät

Da die Säurelast der Diät einer der Haupteinflussfaktoren der NEAP ist, sollte diese bei Untersuchungen des Säure-Basen-Status kontrolliert werden. Für die vorliegende Arbeit wurde hierzu das PRAL-Modell (*potential renal acid load*, potentielle renale Säurelast) genutzt (Remer and Manz 1994). Der PRAL-Wert wird als Differenz aus Aufnahme nicht-metabolisierbarer Anionen und Protein (Säurevorläufer) und mineralischer Kationen (Basenvorläufer)¹ berechnet und gibt so das Verhältnis von Säure- zu Basenvorläufern wieder. Ein positiver PRAL-Wert zeigt einen Überschuss von Säurevorläufern in der Diät an, ein negativer einen Überschuss an Basen. Bei einem PRAL-Wert von 0 kann das Verhältnis zwischen Säure- und Basenvorläufern in der Diät als ausgeglichen betrachtet werden.

Der PRAL-Wert wurde nach Remer und Manz (Remer and Manz 1994) berechnet als:

$$\text{PRAL (mEq/d)} = (0,0268 * \text{Cl}^- + 0,0366 * \text{PO}_4^{3-} + ((0,488 * 10^{-3}) * \text{Protein})) \\ - (0,0413 * \text{Na}^+ + 0,0205 * \text{K}^+ + 0,0263 * \text{Mg}^{2+} + 0,0155/ 0,012 * \text{Ca}^{2+})$$

wobei:

Cl^- = Chlorid (mg/d)

PO_4^{3-} = Phosphat (mg/d)

Na^+ = Natrium (mg/d)

K^+ = Kalium (mg/d)

Mg^{2+} = Magnesium (mg/d)

Ca^{2+} = Calcium (mg/d)

Für die Salty Life 7-Studie wurde der PRAL-Wert retrospektiv berechnet. Hier wurden veränderte Absorptionsraten für Calcium in Kopftieflage berücksichtigt: Bei stabilen Isotopenmessungen haben LeBlanc et al. 24% intestinale Calciumabsorption in Kopftieflage sowie 31% bei aufrechter Körperposition gemessen (LeBlanc et al. 1995b).

3.6.1.5 pH-Wert im 24h-Urin

Der pH-Wert der 24h-Urine wurde vor dem Einfrieren mit einer pH-Elektrode (inoLab pH720, WTM, Weilheim, Deutschland) bestimmt.

¹nicht-metabolisierbare Anionen: Chlorid Cl^- , Phosphat PO_4^{3-} , Sulfat SO_4^{2-} sowie organische Anionen OA; mineralischen Kationen: Natrium Na^+ , Kalium K^+ , Calcium Ca^{2+} und Magnesium Mg^{2+}

3.6.1.6 Netto-Säureausscheidung im 24h-Urin

Die Analyse der Netto-Säureausscheidung (*net acid excretion*, NAE) wurde für die jeweils letzten 2 Tage der Adaptationsphasen und Interventionsphasen nach Jörgensen (JORGENSEN 1957) als dreistufige Endpunkttitration im 24h-Urin durchgeführt und nach Lüthy et al. (Luthy et al. 1977) modifiziert. Die Titrationsschritte erfolgten an einem handelsüblichen Titrator (Mettler Toldedo DL50, Mettler Toledo, Gießen, Deutschland) mit einer pH-Elektrode mit Flachmembran (LoT 403-M8-S7/120, Mettler Toledo, Gießen, Deutschland).

Die Netto-Säureausscheidung wurde berechnet als:

$$\text{NAE (mEq/d)} = \text{TA} + \text{NH}_4^+ - \text{HCO}_3^-$$

wobei:

TA = *titrable acid*, titrierbare Säure (mEq/d)

NH₄⁺ = Ammonium (mEq/d)

HCO₃⁻ = Bicarbonat (mEq/d)

Die Proben wurden als Duplikate analysiert. Zur Auswertung wurde der Mittelwert dieser Analysen genutzt. Bei folgenden Variationskoeffizienten wurden Wiederholungsmessungen durchgeführt: TA und NH₄⁺ > 5%, HCO₃⁻ > 15%. Der Variationskoeffizient aus einer Reihe täglich analysierter Standardlösungen lag für die NH₄⁺-Bestimmung bei 1,47% (Salty Life 7) bzw. 1,73% (Salty Life 8) und für die HCO₃⁻-Bestimmung bei 1,24 % (Salty Life 7) bzw. 1,15% (Salty Life 8).

3.6.2 Stickstoffbilanz

Die Stickstoffbilanz wurde als Differenz aus Stickstoffaufnahme in einem definierten Zeitraum (pro Tag) und -ausscheidung im entsprechenden 24h-Urin berechnet.

Stickstoffaufnahme

Die Berechnung der Stickstoffaufnahme erfolgte anhand der Menüpläne (Proteinaufnahme/6,25).

Stickstoffausscheidung

Die Gesamtstickstoffausscheidung im 24h-Urin wurde nach Grimble und Ward et al. (Grimble et al. 1988; Ward et al. 1980) mittels photometrischer Messung in einem hochsensitiven Stickstoff-Analysator (Antec 7000V, CTC Analytics AG, Zwingen, Schweiz) bestimmt. Die

Bestimmung erfolgte als Doppelbestimmung und zur Auswertung wurde der Mittelwert verwendet. Der Variationskoeffizient aus 30 Analysen einer Harnstoff-Standardlösung betrug 1,5%.

Stickstoffbilanz

Die Stickstoffbilanz wurde berechnet als:

$$\text{N-Bilanz (g/d)} = \text{N-Aufnahme (g/d)} - \text{N-Ausscheidung (g/d)}$$

3.6.3 IGF-1-Konzentration im Serum

Die IGF-1-Konzentration im Serum wurde mit dem DSL-5600 ACTIVE® Insulin-Like Growth Factor-I Coated Tube IRMA (Diagnostic Systems Laboratories (DSL), Sinsheim, Deutschland) bestimmt. Die untere Nachweisgrenze des Assays liegt bei 0,80 ng/ml. Der Intraassay-Variationskoeffizient betrug 4,2% und der Interassay-Variationskoeffizient 9,1%.

3.6.4 Freies Cortisol und Cortison im 24h-Urin

Die Ausscheidung von freiem Cortisol im 24h-Urin (*urinary free cortisol*, UFF) ist ein vielfach genutzter Biomarker der funktionalen Glucocorticoidaktivität (fGcA) (Orth 1995). Diese wird hauptsächlich durch Cortisol determiniert. Corticosteroide und Aldosteron-Metaboliten spielen nur eine untergeordnete Rolle. Jedoch wird Cortisol insbesondere in der Niere in erheblichem Umfang durch die 11-β-hydroxysteroid-Dehydrogenase Typ 2 (11-β-HSD 2) reversibel zu Cortison inaktiviert, kann aber von der nahezu ubiquitär vertretenen 11-β-HSD 1 reaktiviert werden. Die zusätzliche Analyse von freiem Cortison im 24h-Urin (*urinary free cortisone*, UFE) vermeidet daher ein z.T. erhebliches *Confounding* der fGcA durch die in den renalen Tubuluszellen hochexprimierte 11-β-HSD 2 (Remer et al. 2006) und ermöglicht daher eine präzisere Aussage über die fGcA (Remer and Maser-Gluth 2007). Daher wurde die Ausscheidung beider freien, potentiell bioaktiven Glucocorticoide im 24h-Urin für den jeweils letzten Tag der Adaptationsphase (-1) sowie die Studientage der Interventionsphase 3, 6, 10 (zusätzlich in Salty Life 7: 14) bestimmt. Die Analyse erfolgte quantitativ mittels eines nicht-kommerziellen Radioimmunosassay wie bei Dimitriou et al. (Dimitriou et al. 2003) beschrieben.

3.6.5 Postabsorptiver Gesamtkörper-Proteinstoffwechsel (Salty Life 8)

In der Salty Life 8-Studie wurde an Studientag -1 (Adaptationsphase) und +1 (Erholungsphase) die Kinetik des postabsorptiven Gesamtkörper-Proteinstoffwechsels nach Wolfe (Wolfe 1992) untersucht. Das Experiment war Teil einer Kooperation mit dem Institut für klinische, morphologische und technische Wissenschaft der Universität von Triest, Italien. Da das Experiment morgens im Nüchternzustand durchgeführt wurde, werden die Daten der Messung an Tag +1 der jeweiligen Interventionsphase zugeordnet.

Tracer Dilution-Methode

Stabil markierte Phenylalanin- und Tyrosin-Isotope werden als *Tracer* des Proteinstoffwechsels intravenös infundiert. Anhand dieser können die Stoffwechselwege von Phenylalanin quantifiziert werden. Die grundsätzliche Limitation der Stoffwechselwege von Phenylalanin auf a. die irreversible Hydroxylierung zu Tyrosin als ersten Schritt des Abbaus und b. die Proteinbiosynthese ermöglicht eine zuverlässige Quantifizierung. Unter der Annahme, dass die Kinetik Phenylalanins ihrem durchschnittlichen Gehalt im Gesamtkörper-Protein entspricht, kann diese auf den Gesamtkörper-Proteinstoffwechsel übertragen werden (Short et al. 1999).

Grundlage der Berechnungen stellt die Anreicherung der markierten Aminosäuren aus der Infusion (*Tracer*) durch die unmarkierten Aminosäuren aus der Proteolyse (*Tracee*) dar (s. unten). Sobald ein *steady state*-Zustand erreicht ist, lässt sich das Verhältnis *Tracer/Tracee* im abgenommenen Plasma massenspektrometrisch bestimmen.

Tracer

Die stabil markierten Aminosäure-Isotope L-[ring-D5]Phenylalanin, L-[ring-D4]Tyrosin und L-[ring-3,5-D2]Tyrosin wurden von Cambridge Isotope Laboratories, Andover, USA bezogen. Die chemische und optische Reinheit der Isotope sowie die Deuteriumanreicherung betragen mindestens 98%.

Die Isotope wurden auf Pyrogenfreiheit getestet und im Anschluss im Sterillabor in 0,9%iger NaCl-Lösung gelöst und steril filtriert. Die Menge NaCl, die die Probanden über die Infusion erhalten haben, wurde mit der Diät verrechnet.

Experimentablauf

In Abbildung 3.7 ist der Experimentablauf schematisch dargestellt:

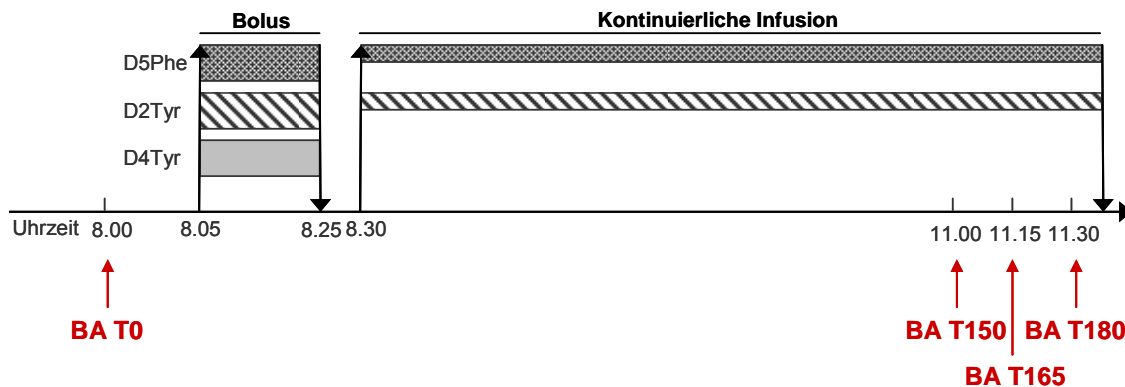


Abbildung 3.7 Experimentablauf zur Analyse des Gesamtkörper-Proteinstoffwechsels. BA = Blutabnahme, D5Phe = L-[ring-D5]Phenylalanin, D2Tyr = L-[ring-3,5-D2]Tyrosin, D4Tyr = L-[ring-D4]Tyrosin. Der BA-Zeitpunkt T0 steht für die Baseline-Messung vor Experimentbeginn. Die Abnahmezeitpunkte der BAs zu den Zeitpunkten T150 – T180 beziehen sich auf den Start der kontinuierlichen Infusion.

Zur Bestimmung der Hintergrundanreicherung der *Tracer* wurde den nüchternen Probanden vor Experimentbeginn zum Zeitpunkt T0 Blut abgenommen (s. unten). In die Vene des gegenüberliegenden Unterarms wurde zur Infusion eine Venenverweilkanüle gelegt. Zunächst wurde innerhalb von 20 Minuten eine Bolusinfusion aller drei Isotope (L-[ring-D5]Phenylalanin: 252 μmol , L-[ring-3,5-D2]Tyrosin: 126 μmol und L-[ring-D4]Tyrosin: 84 μmol) gegeben, da durch Aufsättigung der *Tracer* eine schnellere Einstellung des *steady state*-Zustandes ermöglicht wird. Im Anschluss wurden L-[ring-D5]Phenylalanin und L-[ring-3,5-D2]Tyrosin mit einer Fließrate von 4,2 $\mu\text{mol}/\text{min}$ bzw. 2,1 $\mu\text{mol}/\text{min}$ über drei Stunden infundiert. Die Fließrate wurde über eine automatische Infusionspumpe (Infusomat FM, BBraun über Meditec Hansen, Nachrodt, Deutschland) mit einer Abweichung von <1% reguliert. 150, 165 und 180 Minuten nach Start der kontinuierlichen Infusion wurde den Probanden erneut Blut abgenommen (s. unten). Im Anschluss an die letzte Blutabnahme wurde die Infusion beendet.

Blutabnahmen

Die Blutproben in diesem Experiment wurden über eine Venenverweilkanüle (Sarstedt®) im Handrücken gewonnen. Um arterialisierendes, venöses Blut zu erhalten wurde der Handrücken vorab zehn Minuten in einem Heizkissen erwärmt (Thompson et al. 1989). Zur Blutabnahme wurden Monovetten mit EDTA-Additiv (Sarstedt®) verwendet. Nach der Abnahme wurden diese auf Eis transportiert, unmittelbar bei 3000 rpm und 4°C zentrifugiert und auf Eis weiter verarbeitet. Die Venenverweilkanüle wurde zwischen den Blutabnahmesequenzen mit einem

zugehörigen Mandrin (Sarstedt®) verschlossen. Die Proben wurden im Labor mit 1 mg Proteasehemmer (Aprotinin from bovine lung, Fluka über Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Deutschland) pro ml EDTA aliquotiert und anschließend bis zur Analyse bei -80°C gelagert.

Analyse der EDTA-Proben

Aus den EDTA-Aliquots wurde die Anreicherung des *Tracers* durch den *Tracee* (*Tracer/Tracee*) wie beschrieben (Antonione et al. 2008) quantitativ mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie bestimmt.

Berechnung der Kinetik

Die Kinetik des postabsorptiven Gesamtkörper-Proteinstoffwechsels wurde wie folgt nach Short et al. (Short et al. 1999) berechnet.²

1. Proteolyse

Die Proteolyserate wird im Nüchternzustand anhand der „Erscheinungsrate“ von Phenylalanin aus der Proteolyse in den Aminosäurepool (*rate of appearance*, R_a Phe) berechnet:

$$R_a \text{ Phe } (\mu\text{mol}/\text{min}) = \frac{iD5Phe}{D5Phe / Phe}$$

wobei:

R_a Phe = *Rate of appearance* Phe ($\mu\text{mol}/\text{min}$)

i D5-Phe = Infusionsrate von D5Phe ($\mu\text{mol}/\text{min}$)

D5Phe/Phe = Anreicherung D5Phe/Phe

² D5Phe = L-[ring-D5]Phenylalanin, D4Tyr = L-[ring-D4]Tyrosin, D2Tyr = L-[ring-3,5-D2]Tyrosin
Phe = freies Phenylalanin, Tyr = freies Tyrosin

2. Hydroxylierung von Phenylalanin zu Tyrosin

Die Hydroxylierungsrate von Phenylalanin zu Tyrosin wurde anhand der R_a D4Tyr aus der Hydroxylierung von D5Phe berechnet als:

$$R_a \text{ D4Tyr } (\mu\text{mol/min}) = R_a \text{ Tyr} * (\text{D4 Tyr/Tyr})$$

wobei:

$R_a \text{ Tyr}$ = *Rate of appearance* Tyr ($\mu\text{mol/min}$) (aus Proteolyse)

D4-Tyr/Tyr = Anreicherung D4Tyr/Tyr

Die hierzu erforderliche $R_a \text{ Tyr}$ erhält man durch die Infusion des unabhängigen *Tracers* D2Tyr und die so entstehende Anreicherung D2Tyr/Tyr:

$$R_a \text{ Tyr } (\mu\text{mol/min}) = \frac{iD2Tyr}{D2Tyr / Tyr}$$

wobei:

$i \text{ D2-Tyr}$ = Infusionsrate von D2-Tyr ($\mu\text{mol/min}$)

D2Tyr/Tyr = Anreicherung D2Tyr/Tyr

Die tatsächliche Hydroxylierung von D5Phe wird berechnet indem die $R_a \text{ D4Tyr}$ auf die Anreicherung des *Tracers* bezogen wird:

$$\text{Hydroxylierung D5-Phe } (\mu\text{mol/min}) = \frac{R_a \text{ D4Tyr}}{D5Phe / Phe}$$

3. Proteinbiosynthese

Im *steady state*-Zustand entspricht die *rate of appearance* einer Aminosäure ihrer *rate of disappearance* (Welle 1998), d.h. in der vorliegenden Untersuchung der Summe aus Phenylalaninhydroxylierung und Aufnahme von Phenylalanin in die Proteinbiosynthese. Dementsprechend wird die Proteinbiosynthese berechnet als:

$$\text{Proteinbiosynthese } (\mu\text{mol/min}) = R_a \text{ Phe} - \text{Hydroxylierung Phe}$$

Da die verwendeten Isotope in geringer Konzentration auch nativ im freien Aminosäurepool vorkommen, ist für alle Berechnungen der Differenzwert aus dem Mittelwert der Zeitpunkte T150, T165, T180 (*steady state*-Plateau) und dem Wert zum Zeitpunkt T0 (Hintergrundanreicherung) als *Tracer/Tracee* verwendet worden. Der Variationskoeffizient

der Anreicherung des jeweiligen *Tracers* lag zu den Zeitpunkten T150, T165, T180 für D5Phe/Phe <10%, für D2Tyr/Tyr <2% und für D4Tyr/Tyr <6%.

3.7 Statistische Auswertung

Die ermittelten Daten sind als Mittelwerte aller Probanden der entsprechenden Studie (MW) \pm Standardabweichung (SD) dargestellt. Die statistische Auswertung der Arbeit erfolgte mit der Software STATISTICA (StatSoft, 05). Für alle Daten ist eine grafische Überprüfung der Verteilungsannahmen durchgeführt worden (Quantil-Quantil-Diagramm). Waren Kriterien für eine parametrische Testung nicht erfüllt, wurden die Daten mittels Logarithmierung (∞) oder Berechnung der Inversen (\bullet) transformiert. Konnte so keine Normalverteilung der Residuen erzielt werden, wurden entsprechende nicht-parametrische Analyseverfahren angewandt (Wilcoxon-Test für Paardifferenzen bzw. Friedman-Test für multiple Testung abhängiger Stichproben). Als Signifikanzschranke wurde $p=0,05$ verwendet, p -Werte $p<0,1$ werden als Trend interpretiert. Liegt der p -Wert unterhalb des Signifikanzniveaus von $p=0,001$ wird nicht der exakte p -Wert sondern $p<0,001$ angegeben; alle p -Werte $>0,001$ werden als tatsächliche Werte angegeben.

24h-Urin, Nüchternblutabnahmen und Nüchternblutgasanalysen

Die Daten, die aus dem 24h-Urin, den Nüchternblutabnahmen und den Nüchternblutgasanalysen gewonnen wurden, sind statistisch wie folgt ausgewertet worden:

Um zu testen, ob die Ausgangsniveaus vor den Interventionsphasen identisch waren, wurden die Daten der Messungen unmittelbar vor Beginn der Interventionsphase (*Baseline* (BL)) mit einem zweiseitigen t-tests für gepaarte Stichproben auf signifikante Unterschiede untersucht. Für Daten aus Blut/Kapillarblut wurde der letzte Tag vor Beginn der Interventionsphase und für Urinparameter der Mittelwert der letzten beiden Tage vor Studienbeginn als *Baseline* betrachtet. Sofern nicht anders beschrieben, waren die Ausgangsniveaus vor den Interventionsphasen nicht unterschiedlich und Unterschiede während dieser können als behandlungsbedingt betrachtet werden.

Die statistische Auswertung der Interventionsphasen erfolgte mit einer ANOVA (*repeated measures design, general linear model*). Die Daten wurden auf Unterschiede in der Behandlungsart („treatment“^(°)) sowie im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Behandlungsart („time*treatment“^(†)) untersucht. Ergab sich ein signifikanter „time*treatment“-Effekt, ohne dass gleichzeitig ein reiner „treatment“-Effekt vorlag, erfolgte eine *post hoc*-Testung mit dem Newman Keul-Test.

Postprandiale Blutabnahmen und Blutgasanalysen

Die Daten aus den postprandialen Blutgasanalysen und Blutabnahmen der Salty Life 8-Studie wurden zunächst an die *Baseline*-Messung vor dem Essen adjustiert, da die Reaktion auf eine NaCl-reiche Mahlzeit mit und ohne zusätzliche Kaliumbicarbonataufnahme untersucht werden sollte. Nach *Baseline*-Adjustierung sind die Daten aus den Messungen an Tag 3 auf signifikante Unterschiede gegenüber denen an Tag 8 untersucht worden (ANOVA *repeated measures design, general linear model*). Sofern nicht anders beschrieben, waren diese nicht unterschiedlich. Zur statistischen Auswertung wurden die *Baseline*-adjustierten von Tag 8 und Tag 13 schließlich gepoolt und mit einer ANOVA (*repeated measures design, general linear model*) auf signifikante Unterschiede in der Reaktion auf eine NaCl-reiche Mahlzeit mit und ohne zusätzliche Kaliumbicarbonataufnahme untersucht (s. oben).

Punktuelle Messungen

Auch die Daten der Kinetik des postabsorptiven Gesamtkörper-Proteinstoffwechsels (s. 3.6.5) und der Netto-Säureausscheidung (s. 3.6.2) wurden zunächst mit einem zweiseitigen t-test für gepaarte Stichproben auf signifikante Unterschiede in den Ausgangsniveaus der beiden Adaptationsphasen untersucht. Sofern nicht anders beschrieben, waren die Ausgangsniveaus vor den Interventionsphasen nicht unterschiedlich und Unterschiede während dieser können als behandlungsbedingt betrachtet werden.

Die statistische Auswertung der Daten der Interventionsphasen erfolgte ebenfalls mit einem zweiseitigen t-test für gepaarte Stichproben.

4 Ergebnisse

4.1 Salty Life 7

4.1.1 Säure-Basen-Status im Blut

4.1.1.1 pH-Wert, Pufferbasen und Blutgase

pH-Wert (nüchtern)

Abbildung 4.1 zeigt den pH-Wert im Kapillarblut während HDTBR in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr. Dieser lag im Mittel in beiden Studienteilen innerhalb des Normbereiches. Einzelwerte lagen jedoch sowohl bei hoher als auch bei niedriger NaCl-Zufuhr oberhalb der Grenze von 7,44 (Maximum: 7,48). Insgesamt war der pH-Wert bei hoher NaCl-Zufuhr tendenziell niedriger als derjenige bei niedriger NaCl-Zufuhr (mittlerer pH-Wert bei 0,7 mmol NaCl/kgKG/d: $7,43 \pm 0,02$, bei 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $7,42 \pm 0,02$; ANOVA *repeated measures*: $p=0,061$, „*treatment*“-Effekt).

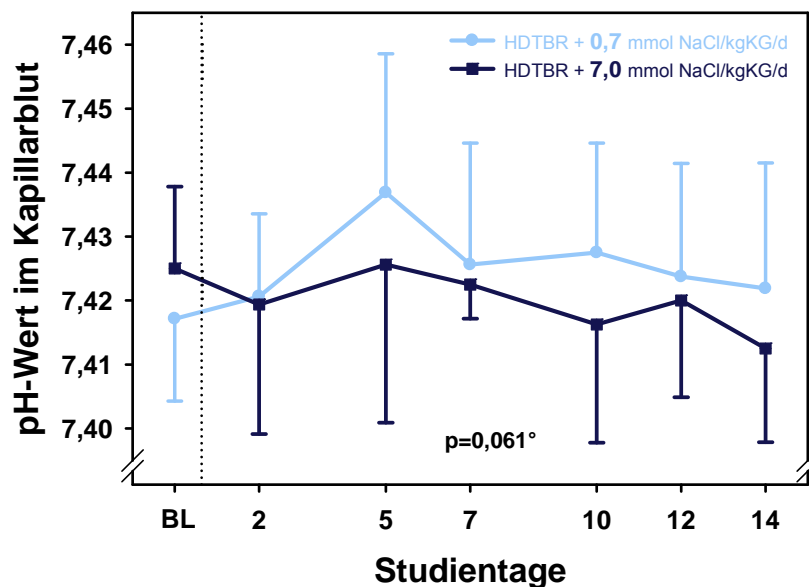


Abbildung 4.1 pH-Wert im Kapillarblut während HDTBR und variierender NaCl-Zufuhr bei Baseline(BL)-Messung und an den Tagen 2, 5, 7, 10, 12 und 14 der Interventionsphase. Dargestellt sind Mittelwerte aller Probanden (MW) \pm Standardabweichung (SD). ANOVA: tendenzieller Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p=0,061$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p=0,165$.

Bicarbonatkonzentration (nüchtern)

In Abbildung 4.2 ist die Bicarbonatkonzentration ($[\text{HCO}_3^-]$) im Kapillarblut beider Studienteile dargestellt. In der Salty Life 7-Studie lag diese im Mittel sowohl bei hoher als auch bei niedriger NaCl-Zufuhr oberhalb der Norm. Bei hoher NaCl-Zufuhr waren allerdings Einzelwerte der Probanden <24 mmol/l (Minimum: 23,5 mmol/l). Die statistische Auswertung zeigte, dass die Bicarbonatkonzentration bei hoher NaCl-Zufuhr konstant niedriger war als bei niedriger NaCl-Zufuhr (mittlere $[\text{HCO}_3^-]$ bei 0,7 mmol NaCl/kgKG/d: $26,4 \pm 1,36$ mmol/l, bei 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $25,21 \pm 1,14$ mmol/l; ANOVA *repeated measures*: $p < 0,001$, „*treatment*“-Effekt).

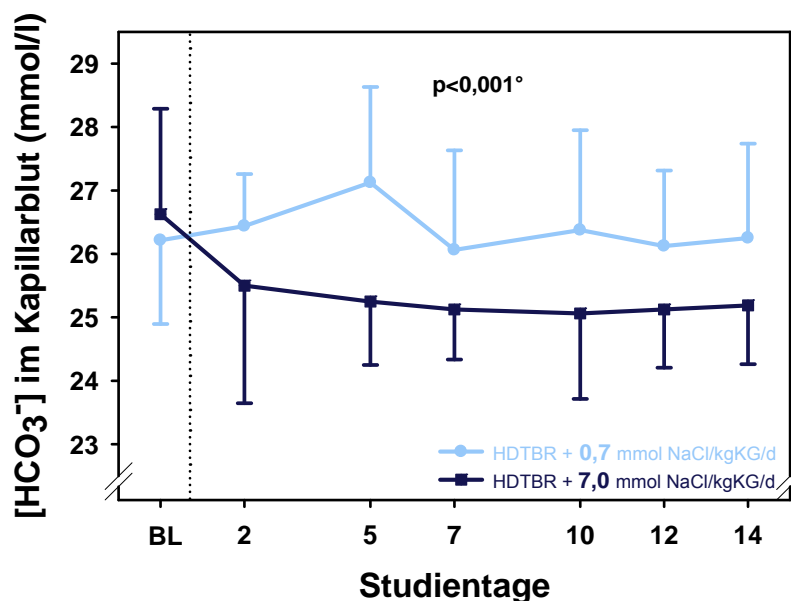


Abbildung 4.2 Bicarbonatkonzentration im Kapillarblut (mmol/l) während HDTBR in Abhängigkeit von der Höhe der NaCl-Zufuhr. Dargestellt sind MW \pm SD der Baseline-Messung sowie der Studientage 2, 5, 7, 10, 12 und 14 (Interventionsphase). ANOVA: Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p < 0,001^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p = 0,314$.

Basenüberschuss (nüchtern)

In Abbildung 4.3 ist der Basenüberschuss (BE) im Kapillarblut bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR dargestellt. Parallel zur Bicarbonatkonzentration war der Basenüberschuss der Probanden in dieser Studie sowohl bei hoher als auch bei niedriger NaCl-Zufuhr positiv, d.h. basenüberschüssig. Allerdings lagen Werte einzelner Probanden während der hohen NaCl-Zufuhr im negativen, also defizitären Bereich. Die statistische Auswertung zeigte, ebenfalls in Übereinstimmung mit der Bicarbonatkonzentration, einen signifikant niedrigeren Basenüberschuss bei hoher NaCl-Zufuhr als bei niedriger (mittlerer BE bei 0,7 mmol NaCl/kgKG/d: $2 \pm 1,27$ mmol/l, bei 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $0,88 \pm 0,98$ mmol/l; ANOVA *repeated measures*: $p < 0,001$, „*treatment*“-Effekt).

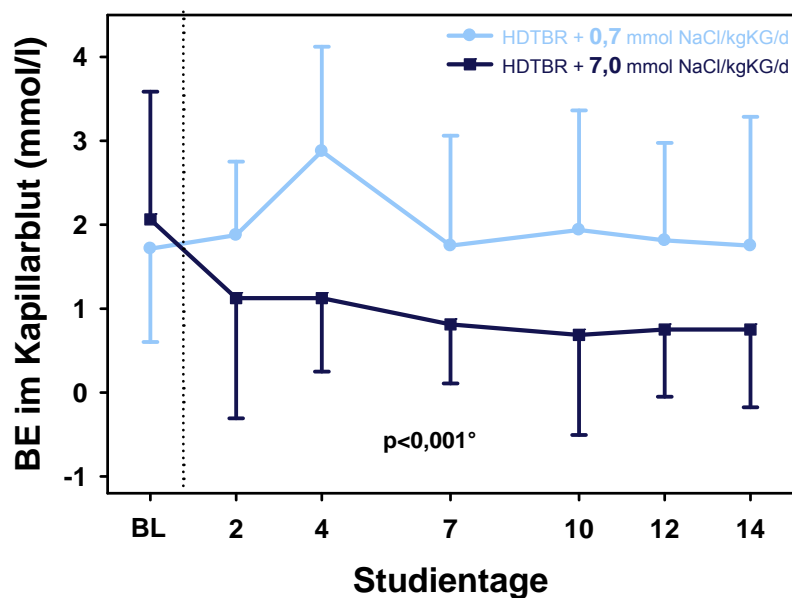


Abbildung 4.3 Basenüberschuss im Kapillarblut (mmol/l) während HDTBR in Abhängigkeit von der Höhe der NaCl-Zufuhr. Dargestellt sind MW \pm SD der Baseline-Messung sowie der Studientage 2, 5, 7, 10, 12 und 14 (Interventionsphase). ANOVA: Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p < 0,001^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p = 0,794$.

Partialdruck für Sauerstoff und Kohlendioxid (nüchtern)

In Tabelle 4.1 sind der Partialdruck für Sauerstoff (pO_2) und Kohlendioxid (pCO_2) im Kapillarblut bei variierender NaCl-Zufuhr in HDTBR zusammengefasst. Da die Blutgase in dieser Studie aus arterialisiertem Kapillarblut bestimmt wurden und die Referenzbereiche für arterielles Blut gelten, liegen die pO_2 Werte in beiden Studienteilen fast ausschließlich unterhalb der angegebenen Norm: Bei niedriger NaCl-Zufuhr lag der pO_2 im Mittel bei $70,7 \pm 6,5$ mmHg und bei hoher NaCl-Zufuhr bei $69,8 \pm 6,8$ mmHg. Es bestand kein Unterschied im pO_2 bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr (ANOVA *repeated measures*: $p=0,707$, „*treatment*“-Effekt).

Die pCO_2 Werte liegen innerhalb des angegebenen Normbereichs: bei niedriger NaCl-Zufuhr betrug der pCO_2 im Mittel $39,1 \pm 1,1$ mmHg, bei hoher $40,2 \pm 2,2$ mmHg. Laut statistischer Auswertung ist der pCO_2 bei hoher NaCl-Zufuhr signifikant geringer als bei niedriger NaCl-Zufuhr (ANOVA *repeated measures*: $p=0,009$, „*treatment*“-Effekt).

Tabelle 4.1 Partialdruck für Sauerstoff und Kohlendioxid (mmHg) im Kapillarblut bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR. Dargestellt sind MW \pm SD der Baseline-Messung sowie der Studientage 2, 5, 7, 10, 12 und 14 (Interventionsphase). pO_2 : ANOVA: kein Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p=0,707^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p=0,999$. pCO_2 : ANOVA: Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p=0,009^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p=0,852$.

	Intervention						
	BL	Tag 2	Tag 5	Tag 7	Tag 10	Tag 12	Tag 14
	pO_2 im Kapillarblut (mmHg) MW \pm SD						
0,7 mmol NaCl/kgKG/d	71,3 \pm 5,4	72,3 \pm 6,6	69,9 \pm 6,5	71,1 \pm 7,9	69,3 \pm 7,0	67,3 \pm 7,0	68,9 \pm 6,8
7,0 mmol NaCl/kgKG/d	69,3 \pm 4,5	72,8 \pm 4,6	70,2 \pm 5,5	72,1 \pm 8,5	70,6 \pm 6,2	68,1 \pm 9,5	70,5 \pm 4,2
p-Wert	0,707[°]						
	pCO_2 im Kapillarblut (mmHg) MW \pm SD						
0,7 mmol NaCl/kgKG/d	40,9 \pm 2,1	40,8 \pm 1,9	40,4 \pm 3,2	39,6 \pm 2,7	40,3 \pm 2,4	39,8 \pm 1,5	40,6 \pm 1,7
7,0 mmol NaCl/kgKG/d	40,3 \pm 1,4	39,6 \pm 3,1	38,3 \pm 2,5	38,7 \pm 1,3	39,5 \pm 2,3	38,7 \pm 2,0	39,8 \pm 1,6
p-Wert	0,009[°]						

4.1.1.2 Anionenlücke und Chloridkonzentration

In Tabelle 4.2 sind die Chloridkonzentration ($[Cl^-]$) im Serum und die Anionenlücke beider Studienteile zusammengefasst. Im Mittel lag die Chloridkonzentration in beiden Studienteilen innerhalb der Norm. Bei hoher NaCl-Zufuhr lagen allerdings einzelne Werte oberhalb der Grenze von 105 mmol/l, so dass man in Einzelfällen auf eine Hyperchlorämie schließen kann. Insgesamt war die Chloridkonzentration bei hoher NaCl-Zufuhr ($103,38 \pm 2,6$ mmol/l) signifikant höher als bei niedriger ($99,95 \pm 2,84$ mmol/l) (ANOVA *repeated measures*: $p < 0,001$, „*treatment*“-Effekt). Die Anionenlücke war in beiden Studien in Einzelfällen größer als der angegebene Richtwert, im Mittel aber jeweils innerhalb der Norm. Insgesamt betrug die Anionenlücke bei niedriger NaCl-Zufuhr $18,1 \pm 3,6$ mmol/l, bei hoher NaCl-Zufuhr $15,5 \pm 3,2$ mmol/l. Es bestand kein signifikanter Unterschied abhängig von der NaCl-Zufuhr (ANOVA *repeated measures*: $p = 0,287$, „*treatment*“-Effekt).

Tabelle 4.2 Anionenlücke (mmol/l) und Chloridkonzentration (mmol/l) im Serum bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR. Dargestellt sind MW \pm SD für die Baseline-Messung und die Studientage 2, 5, 7, 10, 12 und 14 (Interventionsphase). **Chloridkonzentration im Serum:** ANOVA: Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p < 0,001^\circ$. Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p < 0,001^\dagger$. **Anionenlücke:** ANOVA: kein Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p = 0,287^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p = 0,119$.

	Intervention						
	BL	Tag 2	Tag 5	Tag 7	Tag 10	Tag 12	Tag 14
	[Cl⁻] im Serum (mmol/l) MW \pm SD						
0,7 mmol NaCl/kgKG/d	101,2 \pm 2,9	100,4 \pm 3,0	98,1 \pm 3,0	99,8 \pm 2,8	100,1 \pm 3,2	101,2 \pm 2,4	100,1 \pm 2,6
7,0 mmol NaCl/kgKG/d	101,7 \pm 2,3	105,0 \pm 2,6	103,8 \pm 2,5	102,8 \pm 2,8	101,1 \pm 2,7	103,8 \pm 2,4	102,8 \pm 2,4
p-Wert	$<0,001^{\circ\dagger}$						
	Anionenlücke im Blut (mmol/l) MW \pm SD						
0,7 mmol NaCl/kgKG/d	17,3 \pm 3,0	18,4 \pm 2,2	19,3 \pm 3,2	17,8 \pm 4,5	17,8 \pm 4,6	17,2 \pm 3,7	17,9 \pm 4,0
7,0 mmol NaCl/kgKG/d	14,6 \pm 2,6	14,7 \pm 2,6	15,1 \pm 2,4	15,7 \pm 3,4	16,9 \pm 3,6	15,2 \pm 3,7	15,5 \pm 3,7
p-Wert	$0,287^\circ$						

4.1.2 Potentielle renale Säurelast der Diät

Wie beschrieben (s. 3.1.1) wurde die Diät bei hoher NaCl-Zufuhr mit 0,7 mmol NaHCO₃/kgKG/d in Form eines natriumreichen Mineralwassers (PRAL: -2,8 mEq/100ml) alkalisiert. Die tägliche Aufnahme hat durchschnittlich eine zusätzliche PRAL von $-54 \pm 2,97$ mEq/d bewirkt. Infolgedessen hat die Diät bei hoher NaCl-Zufuhr einen Überschuss an Basen geliefert ($-41,39 \pm 17,51$ mEq/d) während diejenige mit niedriger NaCl-Zufuhr laut PRAL-Modell säurelastig war ($17,90 \pm 11,26$ mEq/d) (vgl. Abbildung 4.4). Dieser Unterschied ist statistisch signifikant (ANOVA *repeated measures*: $p < 0,001$, „*treatment*“-Effekt).

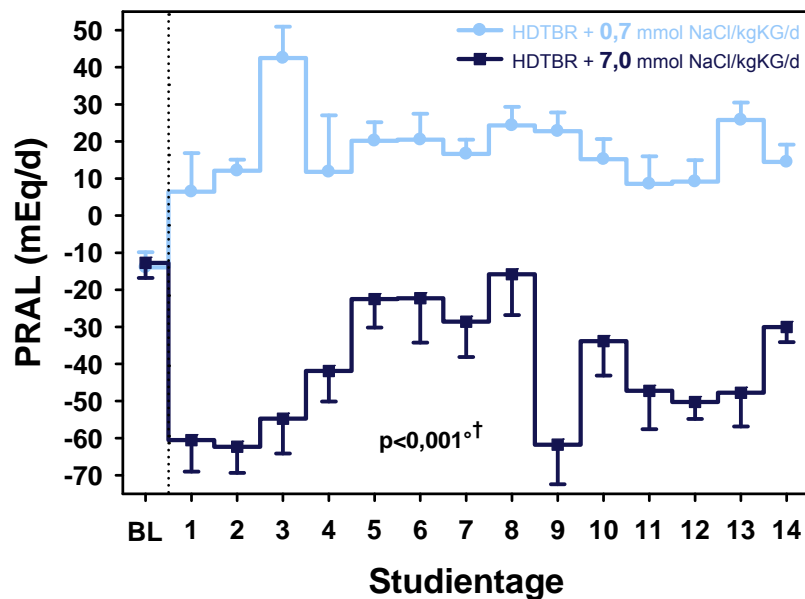


Abbildung 4.4 Potentielle renale Säurelast der Diät (mEq/d) während der Baseline-Messungen und an den Tagen 1 – 14 der Interventionsphasen bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR. Dargestellt sind MW \pm SD. ANOVA: Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p < 0,001^{\circ}$. Zeitabhängiger Unterschied zwischen den beiden NaCl-Zufuhren: $p < 0,001^{\dagger}$.

4.1.3 Säure-Basen-Status im 24h-Urin

4.1.3.1 pH-Wert

In Abbildung 4.5 ist der pH-Wert des 24h-Urins an den entsprechenden Studientagen dargestellt. Dieser war bei hoher NaCl-Zufuhr signifikant höher als bei niedriger: der pH-Wert im 24h-Urin betrug bei niedriger NaCl-Zufuhr $6,14 \pm 0,26$ und bei hoher $6,68 \pm 0,16$ (ANOVA repeated measures: $p < 0,001$, „treatment“-Effekt).

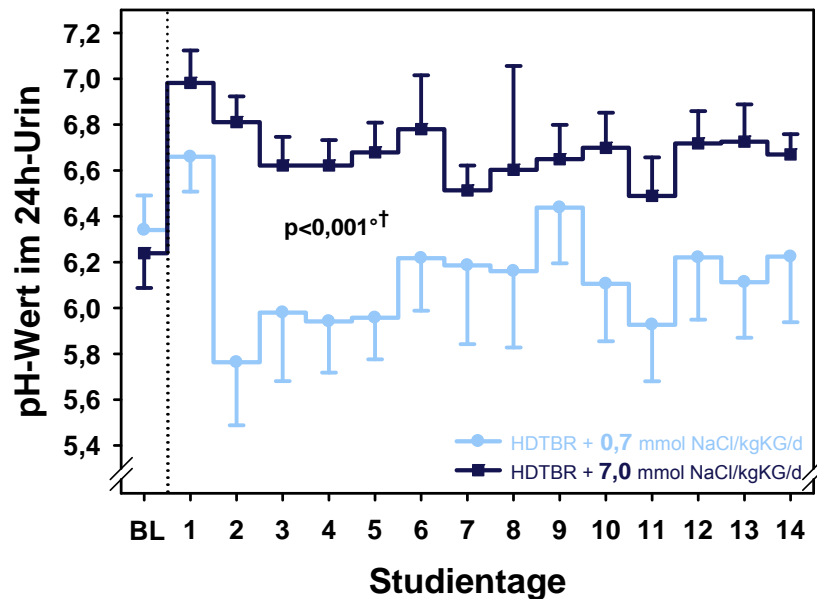


Abbildung 4.5 pH-Wert im 24h-Urin bei Baseline-Datenerhebung und an den Tagen 1 – 14 der Interventionsphasen bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR. Dargestellt sind $MW \pm SD$. ANOVA: Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p < 0,001^{\circ}$. Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p < 0,001^{\dagger}$.

4.1.3.2 Netto-Säureausscheidung

Abbildung 4.6 zeigt die mittlere analysierte Netto-Säureausscheidung (NAE) der Tage 13 und 14 bei hoher und bei niedriger NaCl-Zufuhr. Diese betrug bei niedriger NaCl-Zufuhr $69,29 \pm 13,35$ mEq/d und bei hoher NaCl-Zufuhr $39,53 \pm 10,57$ mEq/d. Die statistische Auswertung zeigte, dass die analysierte NAE bei hoher NaCl-Zufuhr geringer war als bei niedriger NaCl-Zufuhr (t-test für gepaarte Stichproben: $p < 0,001$). Dies korrespondiert mit dem Verzehr des NaHCO_3 -haltigen Mineralwassers bei hoher NaCl-Zufuhr (s. 3.6.1.6).

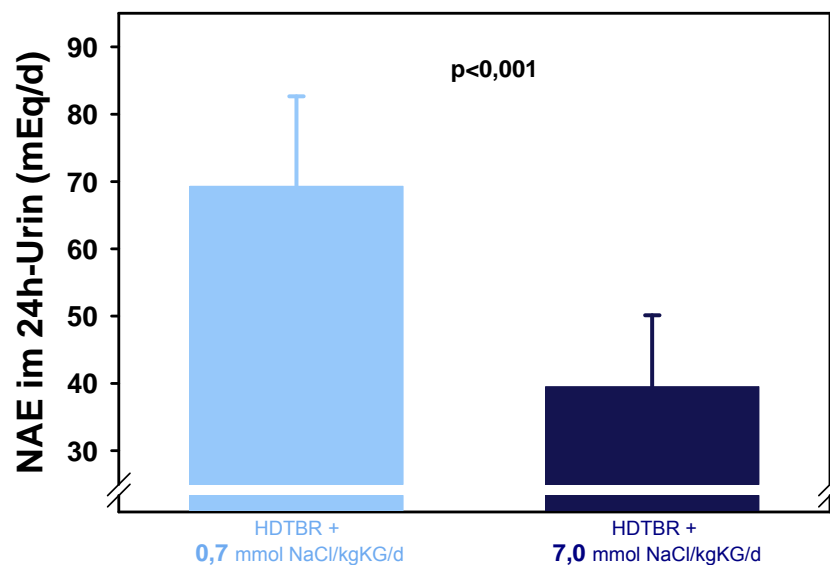


Abbildung 4.6 Mittlere Netto-Säureausscheidung im 24h-Urin (mmol/d) der Tage 13 und 14 bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR. Dargestellt sind MW \pm SD. t-test: Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p < 0,001$.

Ausscheidung von titrierbaren Säuren, Bicarbonat und Ammonium

Die Ausscheidung titrierbarer Säuren war bei hoher NaCl-Zufuhr ($10,93 \pm 3,94$ mmol/d) signifikant niedriger als bei niedriger NaCl-Zufuhr ($27,03 \pm 6,40$ mmol/d; t-test: $p < 0,001$) während die Bicarbonatausscheidung bei hoher NaCl-Zufuhr signifikant größer war (0,7 mmol NaCl/kgKG/d: $10,43 \pm 2,89$ mmol/l; 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $22,41 \pm 4,67$ mmol/d; t-test (∞): $p < 0,001$). Es bestand kein Unterschied in der Ammoniumausscheidung (0,7 mmol NaCl/kgKG/d: $52,70 \pm 7,78$ mmol/l; 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $51,01 \pm 7,97$ mmol/d; t-test: $p = 0,544$) (ohne Abbildung).

4.1.4 Stickstoffbilanz

Abbildung 4.7 zeigt die Stickstoffbilanz, berechnet aus Stickstoffaufnahme und renaler Stickstoffausscheidung, an den entsprechenden Studientagen. Die mittlere Stickstoffbilanz war in beiden Studienteilen negativ, d.h. die Stickstoffausscheidung im Urin war größer als die Stickstoffaufnahme über die Nahrung: Bei niedriger NaCl-Zufuhr betrug die Bilanz $-0,47 \pm 2,33$ g/d und bei hoher NaCl-Zufuhr $-1,26 \pm 2,32$ g/d. Lediglich die Bilanzen des ersten Tages waren in beiden Studienteilen positiv (Stickstoffausscheidung im Urin < Stickstoffaufnahme), während diejenigen bei niedriger NaCl-Zufuhr gegen Ende der Interventionsphase ebenfalls wieder positiv wurden (Tag 11 – 13). Es besteht statistisch kein Unterschied, der sich einzig auf die Höhe der NaCl-Menge zurückführen lässt (ANOVA *repeated measures*: $p=0,498$, „*treatment*“ Effekt). Jedoch zeigt die statistische Auswertung, dass die Höhe der NaCl-Zufuhr im zeitlichen Verlauf der Interventionsphasen durchaus einen Einfluss auf die Stickstoffbilanz hat: Die Stickstoffbilanz mit hoher NaCl-Zufuhr ist mit fortschreitender Dauer der Interventionsphasen negativer als diejenige mit niedriger NaCl-Zufuhr (ANOVA *repeated measures*: $p<0,001$, „*time*treatment*“ Effekt).

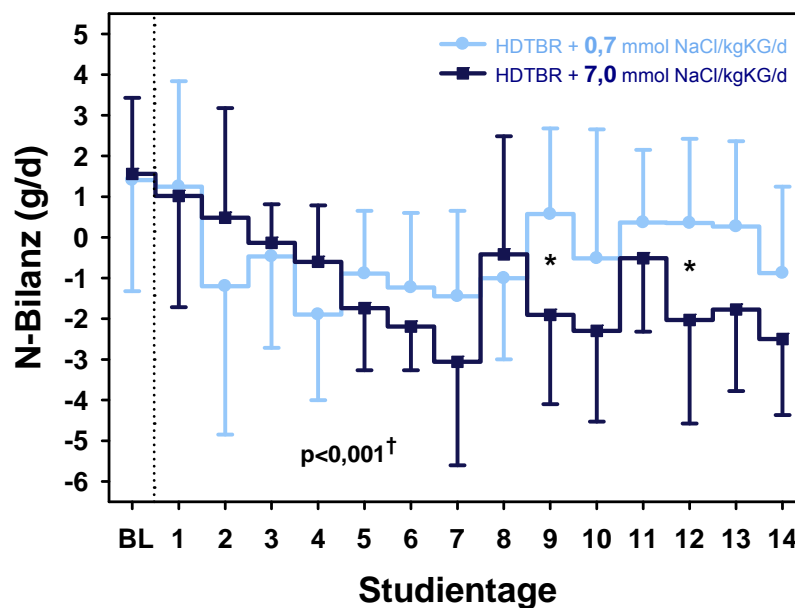


Abbildung 4.7 Stickstoff(N)-Bilanz (g/d) bei Baseline-Messung und den Tagen 1 – 14 der Interventionsphasen bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR. Dargestellt sind $MW \pm SD$. ANOVA: kein Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p=0,498$. Zeitabhängiger Unterschied zwischen den beiden NaCl-Zufuhren: $p<0,001^\dagger$. Die *post hoc*-Testung (Newman Keul) zeigte signifikante Unterschiede für die Tage 9 ($p=0,035^*$) und 12 ($p=0,046^*$).

Die Stickstoffbilanzen beider Studienteile weisen große interindividuelle Unterschiede auf. So liegt der Mittelwert der Stickstoffbilanz bei hoher NaCl-Zufuhr an Tag 12 beispielsweise bei -0,42 g/d. Die Werte einzelner Probanden reichen jedoch von -5,74 g/d bis 3,56 g/d. Ebenso unterschiedlich sind die Ergebnisse hinsichtlich der Reaktion der Probanden auf die Intervention: Bei 6 von 8 Probanden ist eine deutlich negativere Stickstoffbilanz mit hoher NaCl-Zufuhr im Vergleich zur niedrigen NaCl-Zufuhr zu erkennen, dieser Unterschied wird nach ein bis elf Tagen sichtbar. Im Gegensatz dazu ist bei einem Probanden ein tendenziell entgegen gesetzter Effekt zu erkennen und bei einem weiteren kein Unterschied in der Stickstoffbilanz aufgrund der unterschiedlichen NaCl-Zufuhren festzustellen.

Zur Berechnung der kumulativen renalen Stickstoffverluste nach 14 Tagen HDTBR mit unterschiedlicher NaCl-Zufuhr wurden die Bilanzen der Tage 1 bis 14 täglich aufaddiert. Nach 14 Tagen HDTBR betragen die kumulierten renalen Verluste bei niedriger NaCl-Zufuhr im Mittel $-6,29 \pm 24,65$ g, während diejenigen mit hoher NaCl-Zufuhr bei $-17,66 \pm 22,16$ g lagen. Bei einem Stickstoffgehalt von 16% sind das $-39,31 \pm 154,07$ g Proteinverlust bei niedriger NaCl-Zufuhr und $-110,39 \pm 138,51$ g bei hoher NaCl-Zufuhr (ohne Abbildung).

4.1.5 IGF-1-Konzentration im Serum

Tabelle 4.3 zeigt die IGF-1-Konzentration im Serum bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR. Bei niedriger NaCl-Zufuhr betrug diese $337,02 \pm 162,20$ ng/ml, bei hoher NaCl-Zufuhr $315,69 \pm 140,63$ ng/ml. Es bestand kein NaCl-bedingter statistisch signifikanter Unterschied (ANOVA *repeated measures*: $p=0,426$, „*treatment*“ Effekt).

Tabelle 4.3 IGF-1-Konzentration im Serum (ng/ml) bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR. Dargestellt sind MW \pm SD für die Baseline-Messung sowie die Tage 2, 5, 7, 10, 12 und 14 (Interventionsphase). ANOVA: kein Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p=0,426$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p=0,482$.

	Intervention						
	BL	Tag 2	Tag 5	Tag 7	Tag 10	Tag 12	Tag 14
	[IGF-1] im Serum (ng/ml) MW \pm SD						
0,7 mmol NaCl/kgKG/d	332,16 $\pm 204,22$	353,12 $\pm 161,77$	300,64 $\pm 151,29$	344,7 $\pm 174,06$	343,17 $\pm 189,88$	338,01 $\pm 170,89$	342,49 $\pm 173,43$
7,0 mmol NaCl/kgKG/d	284,20 $\pm 128,86$	354,99 $\pm 179,37$	321,03 $\pm 134,71$	328,24 $\pm 140,79$	283,46 $\pm 147,63$	310,91 $\pm 136,28$	295,53 $\pm 136,45$
p-Wert	0,426°						

4.1.6 Ausscheidung von freiem Cortisol und Cortison im 24h-Urin

In Abbildung 4.8 ist die Ausscheidung der freien, potentiell bioaktiven Glucocorticoide Cortisol (UFF) und Cortison (UFE) im 24h-Urin in Abhängigkeit von der Höhe der NaCl-Zufuhr während HDTBR dargestellt. Diese war bei hoher NaCl-Zufuhr tendenziell höher als bei niedriger NaCl-Zufuhr (ANOVA *repeated measures* (∞): $p=0,055$, „*treatment*“ Effekt). Bei niedriger NaCl-Zufuhr betrug die durchschnittliche Ausscheidung von UFF und UFE $128,08 \pm 41,12 \mu\text{g/d}$, bei hoher NaCl-Zufuhr $146,71 \pm 18,63 \mu\text{g/d}$. Dieser tendenzielle Unterschied ist auf eine bei hoher NaCl-Zufuhr erhöhte Ausscheidung freien Cortisols (0,7 mmol NaCl/kgKG/d: $38,85 \pm 16,26 \mu\text{g/d}$; 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $60,13 \pm 21,33 \mu\text{g/d}$; ANOVA *rep. measures* (∞), „*treatment*“ Effekt: $p<0,001$) bei unveränderter Ausscheidung des freien Cortisons (0,7 mmol NaCl/kgKG/d: $89,23 \pm 26,58 \mu\text{g/d}$; 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $86,58 \pm 28,93 \mu\text{g/d}$; ANOVA *rep. measures* (∞), „*treatment*“ Effekt: $p=0,274$) zurückzuführen.

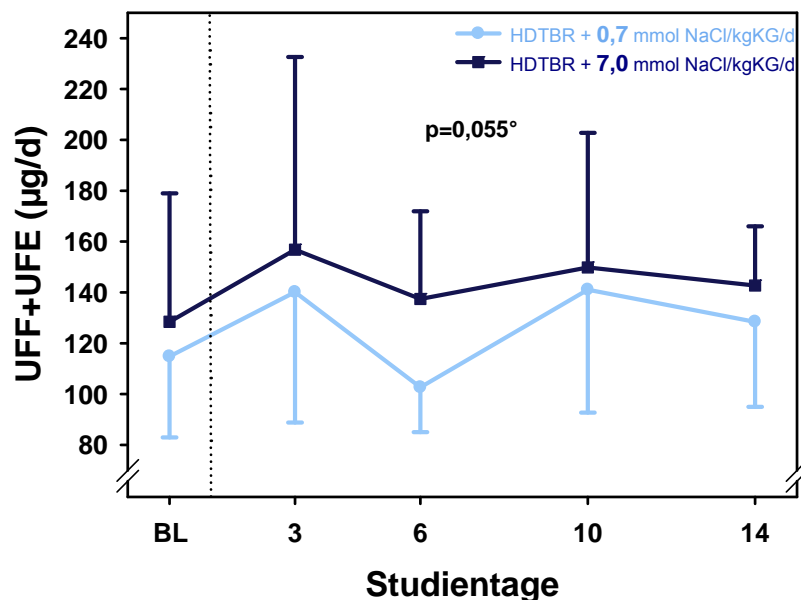


Abbildung 4.8 Ausscheidung von freiem Cortisol (UFF) und Cortison (UFE) im 24h-Urin ($\mu\text{g/d}$) bei Baseline-Messung und an den Tagen 3, 6, 10, 14 der Interventionsphasen bei unterschiedlicher NaCl-Zufuhr in HDTBR. Dargestellt sind MW \pm SD. ANOVA: tendenzieller Unterschied zwischen 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d: $p=0,055^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der NaCl-Zufuhr: $p=0,576$.

4.2 Salty Life 8

4.2.1 Säure-Basen-Status im Blut

4.2.1.1 pH-Wert, Pufferbasen und Blutgase

pH-Wert

A nüchtern

In Abbildung 4.9 ist der pH-Wert im Nüchternkapillarblut bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr kombiniert mit KHCO_3 -Supplementation für die entsprechenden Studientage dargestellt. Dieser lag während beider Interventionen im Normbereich (s. 4.2.1.1), und es war kein Unterschied in Abhängigkeit von diesen erkennbar (ANOVA *repeated measures*: $p=0,695$, „*treatment*“ Effekt). Der pH-Wert betrug bei hoher NaCl-Zufuhr $7,42 \pm 0,02$ und bei hoher NaCl-Zufuhr kombiniert mit KHCO_3 -Supplementation ebenfalls $7,42 \pm 0,01$.

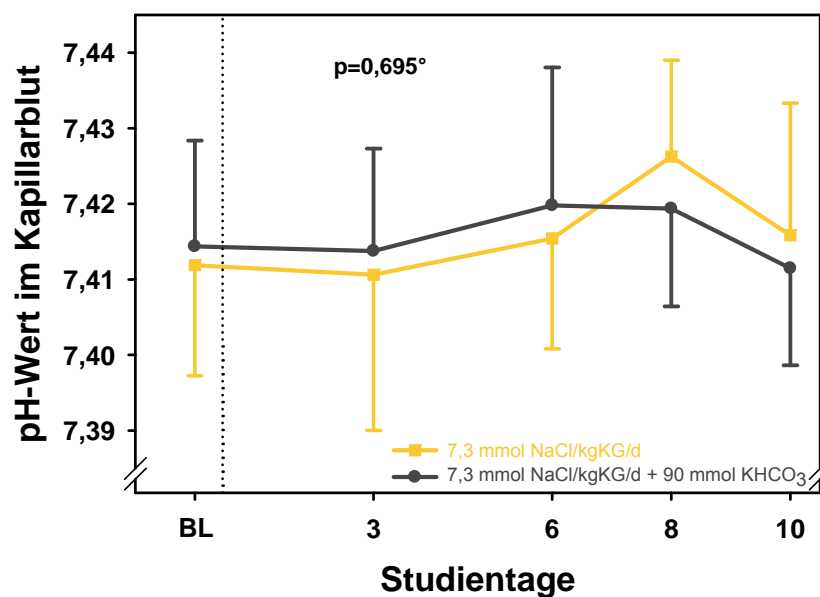


Abbildung 4.9 pH-Wert im Kapillarblut bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr ergänzt durch KHCO_3 -Supplementation. Dargestellt sind $\text{MW} \pm \text{SD}$ der Baseline-Messung und der Studientage 3, 6, 9 und 11. ANOVA: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,695$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,590$.

B postprandial

Abbildung 4.10 zeigt für beide Studienteile die absolute Veränderung des pH-Wertes im Kapillarblut unmittelbar nach dem Mittagessen mit hohem NaCl-Gehalt und ggf. KHCO_3 -Supplementation. Der mittlere pH-Wert lag in beiden Studienteilen sowohl bei der *Baseline*-Messung als auch während des gesamten postprandialen Messzeitraums bei $7,41 \pm 0,01$. Die statistische Auswertung zeigt jedoch bei Kombination der hohen NaCl-Zufuhr mit KHCO_3 einen relativen Anstieg des pH-Werts im zeitlichen Verlauf (ANOVA *repeated measures*: $p=0,036$, „*time*treatment* Effekt“): Im Laufe der ersten Stunde nach dem Mittagessen sank der pH-Wert bei hoher NaCl-Zufuhr um $0,006$ pH ($\pm 0,006$) während dieser bei gleichzeitiger KHCO_3 -Supplementation um $0,005$ pH ($\pm 0,01$) anstieg. Die *post hoc*-Testung bestätigt, dass der pH-Wert eine Stunde nach Einnahme der NaCl-reichen Mahlzeit deutlich höher war, wenn gleichzeitig KHCO_3 gegeben wurde (*Newman Keul*: $p=0,031$). Auch 30 Minuten später ist dieser Effekt tendenziell noch zu erkennen (*Newman Keul*: $p=0,056$). Nach zweieinhalb Stunden erreichen die pH-Werte in beiden Studienteilen wieder ihre Ausgangsniveaus (absolute Veränderung zur *Baseline* 2,5h postprandial: $7,3$ mmol NaCl/kgKG/d: $+0,002$ pH; $7,3$ mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $-0,003$ pH).

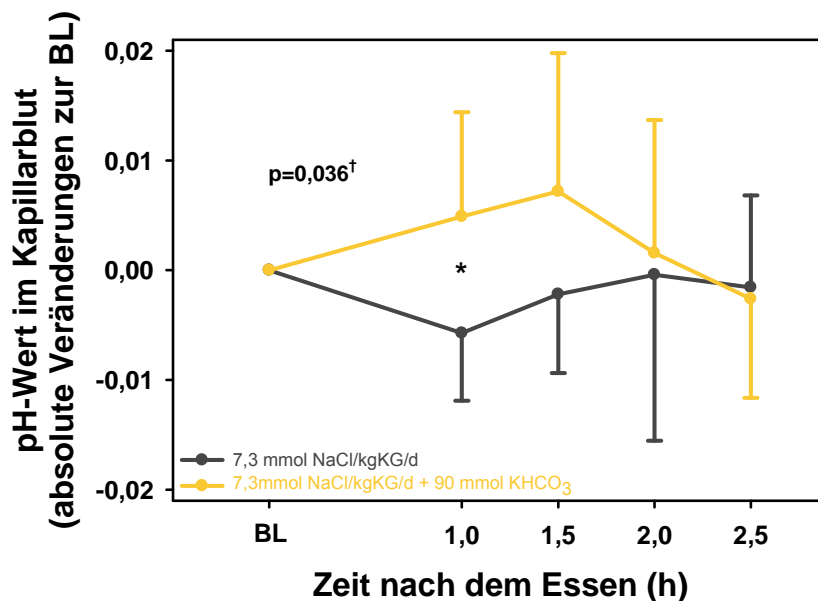


Abbildung 4.10 Postprandialer pH-Wert im Kapillarblut bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr ergänzt durch KHCO_3 -Supplementation. Dargestellt sind für die Zeitpunkte 1h, 1,5h, 2h und 2,5h postprandial absolute Veränderungen zur Baseline-Messung vor dem Mittagessen als $MW \pm SD$. ANOVA: kein Unterschied zwischen $7,3$ mmol NaCl/kgKG/d und $7,3$ mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,148$. Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,036^\dagger$. Die *post hoc*-Testung (*Newman Keul*) zeigte einen signifikanten Unterschied 1h postprandial ($p=0,031^*$) und einen tendenziellen Unterschied 1,5h postprandial ($p=0,056$).

Bicarbonatkonzentration

A nüchtern

Abbildung 4.11 zeigt die Bicarbonatkonzentration ($[\text{HCO}_3^-]$) im Nüchternkapillarblut bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr ergänzt durch die Gabe von KHCO_3 . Diese war bei hoher NaCl-Zufuhr mit KHCO_3 -Supplementation konstant höher als ohne (ANOVA *repeated measures*: $p=0,043$, „*treatment*“ Effekt). Die Bicarbonatkonzentration bei hoher NaCl-Zufuhr betrug $25,6 \pm 1,35$ mmol/l und $25,96 \pm 1,43$ mmol/l während diese mit KHCO_3 ergänzt wurde. Die Probanden sind allerdings bereits mit einem tendenziell höheren Bicarbonatspiegel in die Diät mit hoher NaCl-Zufuhr und KHCO_3 -Supplementation gestartet (*Baseline* (BL) vor 7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $25,56 \pm 1,64$ mmol/l, BL vor 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $26,25 \pm 1,75$ mmol/l, *t*-test: $p=0,054$).

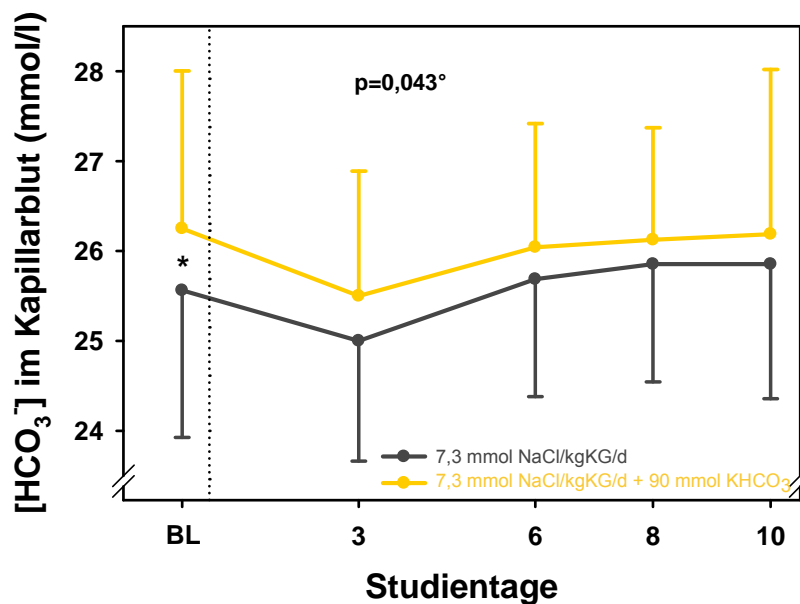


Abbildung 4.11 Bicarbonatkonzentration im Kapillarblut (mmol/l) bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr ergänzt durch KHCO_3 -Supplementation. Dargestellt sind MW \pm SD der Baseline-Messung und der Studientage 3, 6, 9 und 11. ANOVA: Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,043$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,951$. *t*-test: Tendenzieller Unterschied zwischen Daten der Baseline-Messung: $p=0,054$.*

B postprandial

Abbildung 4.12 zeigt die Veränderungen der Bicarbonatkonzentration im Anschluss an ein Mittagessen mit hohem NaCl-Gehalt und ggf. KHCO_3 -Supplementation. Das Ausgangsniveau betrug bei hoher NaCl-Zufuhr $24,92 \pm 1,19$ mmol/l und bei gleichzeitiger KHCO_3 -Supplementation $25,15 \pm 1,23$ mmol/l. Die mittlere Bicarbonatkonzentration des postprandialen Messzeitraums betrug $25,05 \pm 1,1$ mmol/l (7,3 mmol NaCl/kgKG/d) bzw. $25,65 \pm 1,15$ mmol/l (7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3). Die statistische Auswertung zeigte, dass der Anstieg der Bicarbonatkonzentration im Anschluss an das NaCl-reiche Essen konstant höher war, wenn gleichzeitig KHCO_3 aufgenommen wurde (ANOVA *repeated measures*: $p=0,002$, „*treatment*“ Effekt). In beiden Studienteilen wurde eineinhalb Stunden nach dem Essen eine maximale Bicarbonatkonzentration erreicht (absolute Veränderung zur *Baseline* 1,5h postprandial: 7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $+0,32 \pm 0,46$ mmol/l, 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $+0,78 \pm 0,47$ mmol/l), die sich im Anschluss wieder dem *Baseline*-Wert annähert (absolute Veränderung zur *Baseline* 2,5h postprandial: 7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $+0,04 \pm 0,44$ mmol/l, 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $+0,35 \pm 0,52$ mmol/l).

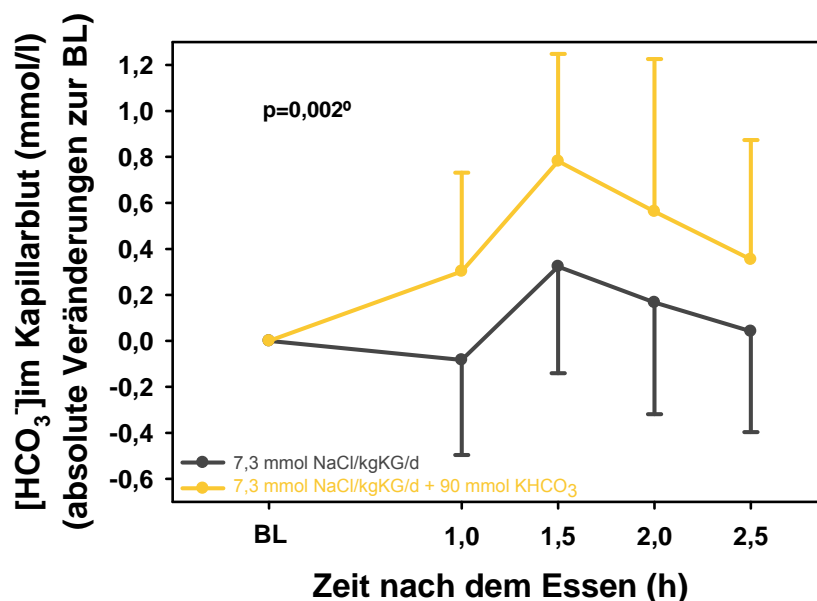


Abbildung 4.12 Postprandiale Bicarbonatkonzentration im Kapillarblut (mmol/l) bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr ergänzt durch KHCO_3 -Supplementation. Dargestellt sind für die Zeitpunkte 1h, 1,5h, 2h und 2,5h postprandial die absoluten Veränderungen zur *Baseline*-Messung vor dem Mittagessen als $MW \pm SD$. ANOVA: Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,002$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,093$.

Basenüberschuss

A nüchtern

Abbildung 4.13 zeigt den Basenüberschuss (BE) im Nüchternkapillarblut bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr mit gleichzeitiger Supplementation von KHCO_3 . Obwohl in beiden Studienteilen Einzelwerte negativ, also basendefizitär, waren, lag der Basenüberschuss im Mittel in beiden Studienteilen im positiven Bereich und war demnach basenüberschüssig (7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $1,22 \pm 1,21$ mmol/l; 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $1,44 \pm 1,26$ mmol/l). In Übereinstimmung mit den *Baseline*-Daten der Bicarbonatkonzentration sind die Probanden auch mit einem höheren Basenüberschuss in die Interventionsphase mit gleichzeitiger KHCO_3 -Supplementation gestartet (7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $0,88 \pm 1,22$, 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $1,63 \pm 1,64$; t-test: $p=0,040$). Zwischen den Ergebnissen der folgenden Interventionsphasen bestand hingegen kein signifikanter Unterschied (ANOVA *repeated measures*: $p=0,102$, „*treatment*“ Effekt).

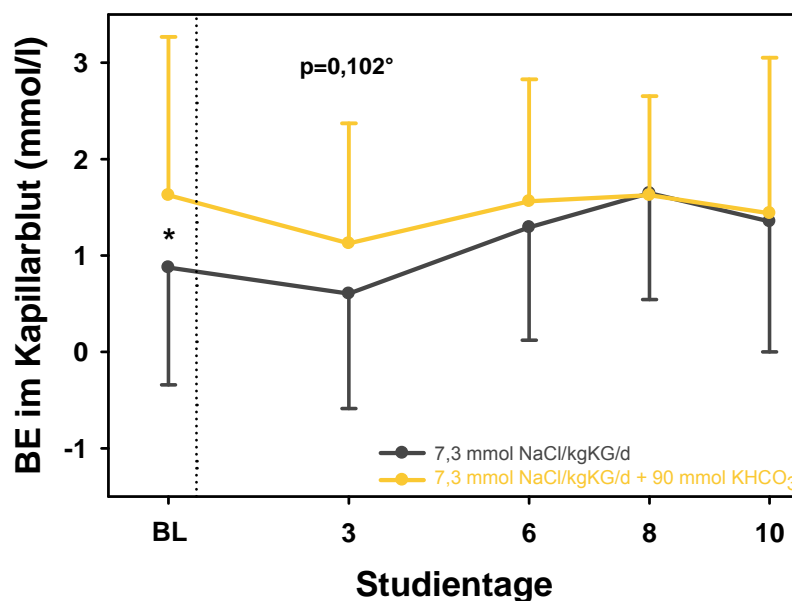


Abbildung 4.13 Basenüberschuss im Kapillarblut (mmol/l) bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr ergänzt durch KHCO_3 -Supplementation. Dargestellt sind MW \pm SD der Baseline-Messung und der Studientage 3, 6, 9 und 11. ANOVA: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,102$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,598$. t-test: Unterschied zwischen Daten der Baseline-Messung: $p=0,040^*$.

B postprandial

In Abbildung 4.14 ist die Veränderung des Basenüberschusses im Kapillarblut im Anschluss an ein NaCl-reiches Mittagessen, welches in einem Studienteil durch KHCO_3 ergänzt wurde, zu sehen. Analog zur postprandialen Bicarbonatkonzentration stieg auch der Basenüberschuss nach der NaCl-reichen Mahlzeit über den gesamten postprandialen Messzeitraum stärker an, wenn gleichzeitig 30 mmol KHCO_3 eingenommen worden sind (ANOVA *repeated measures*: $p < 0,001$, „*treatment*“ Effekt). Auch der Verlauf entspricht demjenigen der postprandialen Veränderungen der Bicarbonatkonzentration: In beiden Studienteilen ist eineinhalb Stunden nach Einnahme der Mahlzeit der maximale Basenüberschuss (absolute Veränderung zur *Baseline*: 7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $+0,17 \pm 0,6$ mmol/l, 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 $+0,93 \pm 0,56$ mmol/l) erreicht. Dieser nähert sich im Anschluss wieder dem Ausgangsniveau an (absolute Veränderung zur *Baseline*: 7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $-0,11 \pm 0,65$ mmol/l, 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $-0,46 \pm 0,48$ mmol/l). Die absoluten Werte des postprandialen Messzeitraums betragen im Mittel bei hoher NaCl-Zufuhr $0,64 \pm 0,96$ mmol/l und bei hoher NaCl-Zufuhr in Kombination mit KHCO_3 $1,34 \pm 0,93$ mmol/l. Die Ausgangsnivaus betragen $0,71 \pm 1,05$ mmol/l (7,3 mmol NaCl/kgKG/d) bzw. $0,75 \pm 1,09$ mmol/l (7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3).

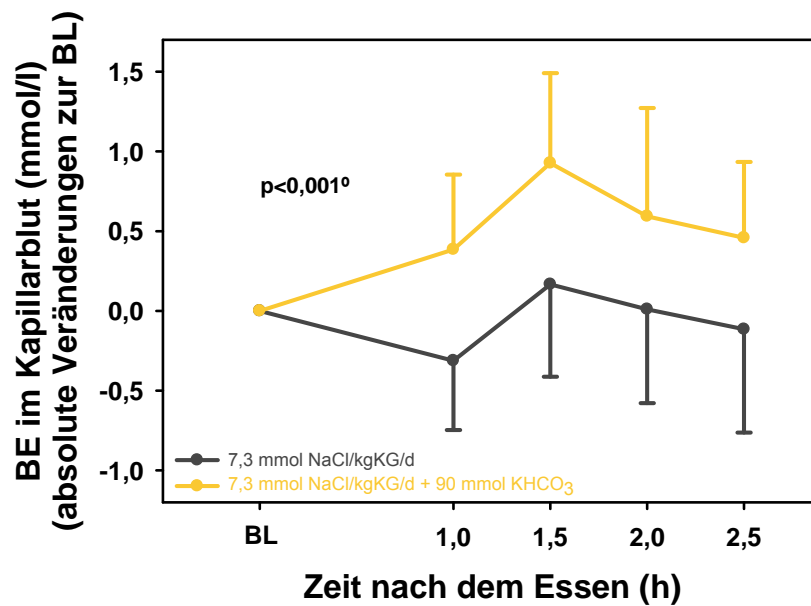


Abbildung 4.14 Postprandialer Basenüberschuss im Kapillarblut (mmol/l) bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr ergänzt durch KHCO₃-Supplementation. Dargestellt sind für die Zeitpunkte 1h, 1,5h, 2h und 2,5h postprandial die absoluten Veränderungen zur Baseline-Messung vor dem Mittagessen als MW ± SD. ANOVA: Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO₃: $p < 0,001^{\circ}$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p = 0,898$.

Partialdruck für Sauerstoff und Kohlendioxid

A nüchtern

Tabelle 4.4 zeigt den pO₂ und pCO₂ im Nüchternkapillarblut. Auch in der Salty Life 8-Studie lagen die pO₂ Werte in beiden Studienteilen unterhalb der Norm (s. 4.1.1.1): Bei hoher NaCl-Zufuhr betrug der pO₂ $67,26 \pm 5,19$ mmHg, bei hoher NaCl-Zufuhr in Kombination mit KHCO₃ $68,09 \pm 6,38$ mmHg. Es bestand kein Unterschied im pO₂ zwischen den beiden Studienteilen (ANOVA repeated measures: $p = 0,697$, „treatment“ Effekt). Die pCO₂ Werte liegen mit $40,05 \pm 1,89$ mmHg (7,3 mmol NaCl/kgKG/d) und $40,68 \pm 2,28$ mmHg (7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO₃) alle innerhalb des angegebenen Normbereiches (s. 4.1.1.1). Auch beim pCO₂ wurde kein Unterschied zwischen den Werten beider Studienteile festgestellt (ANOVA repeated measures: $p = 0,091$, „treatment“ Effekt). Parallel zu den Baseline-Daten der Bicarbonatkonzentration im Nüchternblut (s. oben) wurde ein unterschiedliches Ausgangsniveau vor Studienbeginn festgestellt (7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $40,19 \pm 2,34$ mmHg; 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO₃: $41,38 \pm 2,45$ mmHg; t-test: $p = 0,014$).

Tabelle 4.4 Partialdruck für Sauerstoff und Kohlendioxid (mmHg) im Nüchternkapillarblut bei hoher NaCl-Zufuhr mit und ohne gleichzeitige Gabe von KHCO_3 . Dargestellt sind MW \pm SD der Baseline-Messung und der Studientage 3, 6, 8 und 10 der Interventionsphasen. pO_2 : ANOVA: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,697^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,808$. pCO_2 : ANOVA: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,091^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,373$. *t*-test: Unterschied zwischen Daten der Baseline-Messung: $p=0,014^*$.

	Intervention				
	BL	Tag 3	Tag 6	Tag 8	Tag 10
pO₂ im Kapillarblut (mmHg) MW \pm SD					
7,3 mmol NaCl/kgKG/d	71,9 \pm 4,2	67,7 \pm 4,4	66,2 \pm 5,5	66,6 \pm 5,6	68,5 \pm 5,9
7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3	70 \pm 5,5	69,9 \pm 8	67,6 \pm 5,6	67,3 \pm 5,1	67,6 \pm 7,5
p-Wert	0,697[°]				
pCO₂ im Kapillarblut (mmHg) MW \pm SD					
7,3 mmol NaCl/kgKG/d	40,2 \pm 2,3	39,5 \pm 1,6	40,6 \pm 2,0	39,6 \pm 1,8	40,5 \pm 2,1
7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3	41,4 \pm 2,4	40,4 \pm 1,2	40,4 \pm 2,6	40,7 \pm 2,3	41,2 \pm 2,6
p-Wert	0,014[*]				

B postprandial

Die postprandiale Veränderung des Partialdrucks für Sauerstoff nach NaCl-reicher Mahlzeit war bei KHCO_3 Supplementation tendenziell niedriger als ohne diese (ANOVA *repeated measures*: $p=0,058$, „*treatment*“ Effekt; $p=0,067$, „*time*treatment*“ Effekt): Der pO_2 stieg nach hoher NaCl-Zufuhr im Mittel um $2,17 \pm 3,92$ mmHg; bei gleichzeitiger KHCO_3 Supplementation sank er um $-0,38 \pm 3,53$ mmHg. Die absoluten Werte betragen im Mittel während der gesamten postprandialen Messungen $72,13 \pm 4,57$ mmHg (7,3 mmol NaCl/kgKG/d) bzw. $70,76 \pm 4,53$ mmHg (7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3) und die entsprechenden Ausgangsniveaus lagen bei $69,96 \pm 4,20$ mmHg bzw. $71,14 \pm 3,46$ mmHg (ohne Abbildung).

Die postprandiale Veränderung des Partialdrucks für Kohlendioxid war nach NaCl-reicher Mahlzeit von der reinen KHCO_3 -Supplementation unbeeinflusst (ANOVA *repeated measures*: $p=0,180$, „*treatment*“ Effekt). Jedoch war dieser in Abhängigkeit von der 2,5 stündigen Messzeit mit gleichzeitiger KHCO_3 -Supplementation tendenziell höher als ohne diese (ANOVA *repeated measures*: $p=0,071$, „*time*treatment*“ Effekt). Im Mittel stieg der pCO_2 bei hoher NaCl-Zufuhr $0,66 \pm 0,74$ mmHg, bei gleichzeitiger KHCO_3 Supplementation $0,87 \pm 1,18$ mmHg. Die absoluten Werte betragen im Mittel während der gesamten Messungen $40,35 \pm 2,02$ mmHg (7,3 mmol NaCl/kgKG/d) bzw. $40,76 \pm 1,80$ mmHg (7,3 mmol

NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO₃) und die entsprechenden Ausgangsniveaus lagen bei 39,92 ± 1,77 mmHg bzw. 39,93 ± 1,93 mmHg (ohne Abbildung).

4.2.1.2 Anionenlücke und Chloridkonzentration

In Tabelle 4.5 sind die Chloridkonzentration ([Cl⁻]) im Serum und die Anionenlücke für beide Studienteile zusammengefasst. Im Mittel lag die Chloridkonzentration in beiden Studienteilen knapp innerhalb der angegebenen Norm (s. 4.2.1.2). Allerdings lagen die Einzelwerte oftmals im leicht hyperchlorämischen Bereich (Maximum: 109 mmol/l). Im Mittel betrug die Chloridkonzentration bei hoher NaCl-Zufuhr 104,36 ± 2,81 mmol/l, bei gleichzeitiger KHCO₃-Supplementation 103,56 ± 2,93 mmol/l. Die statistische Auswertung zeigte keinen Unterschied in der Chloridkonzentration der von der Intervention abhängig war (ANOVA *repeated measures*, p=0,456, „*treatment*“ Effekt). Die Anionenlücke lag in beiden Studienteilen innerhalb der angegebenen Normwerte (s. 4.1.1.2): Bei hoher NaCl-Zufuhr betrug diese 10,43 ± 3,26 mmol/l, bei gleichzeitiger KHCO₃-Supplementation 10,58 ± 3,44 mmol/l. Die KHCO₃-Supplementation hatte bei hoher NaCl-Zufuhr laut statistischer Auswertung keinen Einfluss auf die Anionenlücke (ANOVA *repeated measures*: p=0,911, „*treatment*“ Effekt).

Tabelle 4.5 Anionenlücke (mmol/l) und Chloridkonzentration im Serum (mmol/l) bei hoher NaCl-Zufuhr mit und ohne gleichzeitige Gabe von KHCO₃. Dargestellt sind MW ± SD der Baseline-Messung und der Studientage 3, 6, 8 und 10 der Interventionsphasen. **Chloridkonzentration im Serum:** ANOVA: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO₃: p=0,456°. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: p=0,435. **Anionenlücke:** ANOVA: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO₃: p=0,911°. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: p=0,233.

	Intervention				
	BL	Tag 3	Tag 6	Tag 8	Tag 10
	[Cl⁻] im Serum (mmol/l) MW ± SD				
7,3 mmol NaCl/kgKG/d	102,4 ± 2,4	104,4 ± 3,5	104,4 ± 3,0	104,5 ± 2,1	104,1 ± 3,1
7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO₃	102,3 ± 3,1	102,2 ± 3,1	103,4 ± 3,0	104,4 ± 2,5	104,2 ± 3,2
p-Wert		0,456°			
	Anionenlücke im Blut (mmol/l) MW ± SD				
7,3 mmol NaCl/kgKG/d	11,5 ± 4,2	10,7 ± 4,1	9,9 ± 3,5	10,1 ± 2,7	11,1 ± 3,0
7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO₃	11,7 ± 3,9	13,7 ± 3,8	9,4 ± 3,0	9,7 ± 2,1	9,6 ± 3,2
p-Wert		0,911°			

4.2.2 Potentielle renale Säurelast der Diät

Die Basisdiät der Salty Life 8-Studie war – ohne Berücksichtigung des KHCO_3 -Supplements – in beiden Studienteilen moderat alkalisierend: Die PRAL betrug $-34,72 \pm 16,83$ bei $7,3$ mmol NaCl/kgKG/d und $-35,93 \pm 19,42$ bei gleichzeitiger KHCO_3 -Supplementation. Im Vergleich der beiden Studienphasen wies die PRAL keine signifikanten Unterschiede auf (Wilcoxon Test: $p=0,484$) (ohne Abbildung).

4.2.3 Säure-Basen-Status im 24h-Urin

4.2.3.1 pH-Wert

Abbildung 4.15 zeigt den pH-Wert im 24h-Urin über den gesamten Verlauf beider Studienteile. Dieser war signifikant höher, wenn bei hoher NaCl-Zufuhr gleichzeitig KHCO_3 supplementiert worden ist ($6,63 \pm 0,22$ bei $7,3$ mmol NaCl/kgKG/d und $7,11 \pm 0,22$ bei $7,3$ mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 ; ANOVA *repeated measures*: $p<0,001$, „*treatment*“ Effekt).

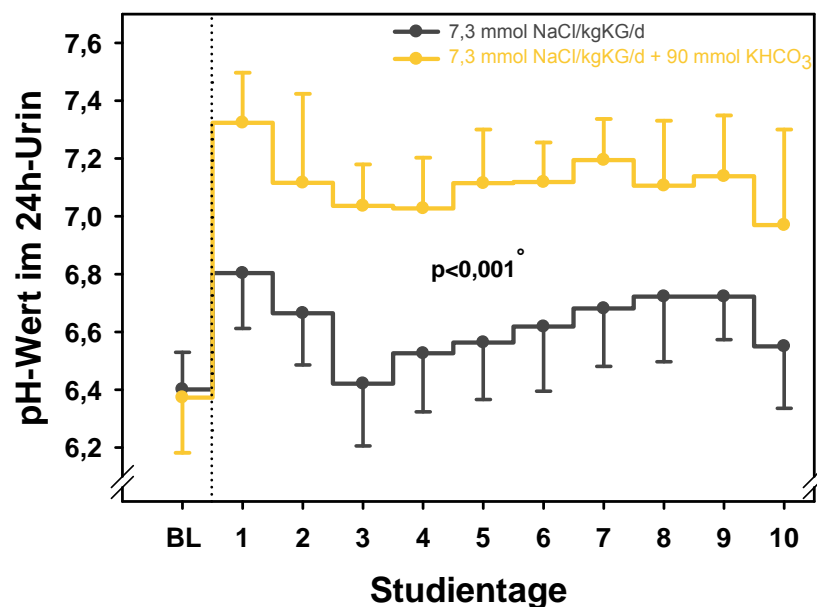


Abbildung 4.15 pH-Wert im 24h-Urin bei Baseline-Messung sowie an den Studientagen 1 – 10 bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr kombiniert mit KHCO_3 . Dargestellt sind MW \pm SD. ANOVA: Unterschied zwischen $7,3$ mmol NaCl/kgKG/d und $7,3$ mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p<0,001$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,864$.

4.2.3.2 Netto-Säureausscheidung

In Abbildung 4.16 ist die mittlere analysierte Netto-Säureausscheidung der Tage 9 und 10 beider Studienteile dargestellt. Die statistische Auswertung zeigte, dass die analysierte NAE signifikant niedriger war, wenn bei hoher NaCl-Zufuhr gleichzeitig KHCO_3 supplementiert wurde (7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $35,81 \pm 8,87$ mEq/d; 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $-39,50 \pm 6,38$ mEq/d; Wilcoxon Test: $p=0,012$). Die Differenz entspricht nahezu der kalkulierten Menge absorbierten Kaliums aus dem Supplement (72,14 mEq/d).

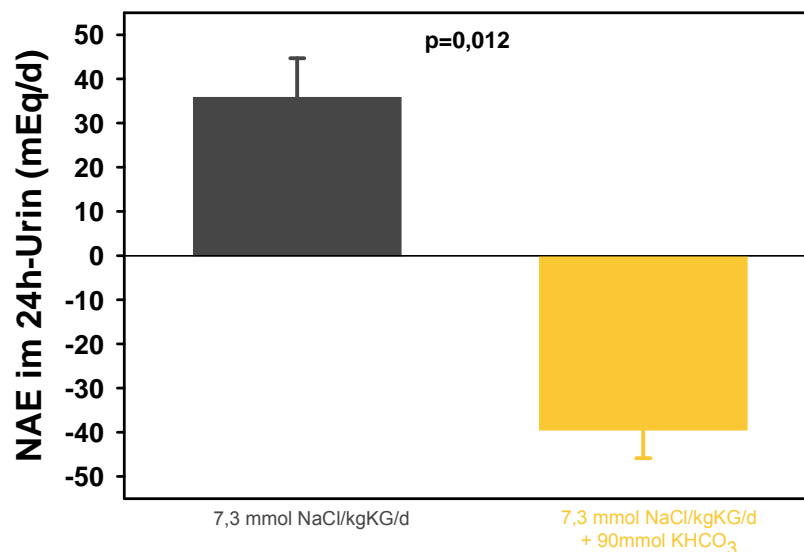


Abbildung 4.16 Mittlere analysierte Netto-Säureausscheidung (mEq/d) der Tage 9 und 10 bei hoher NaCl-Zufuhr und bei hoher NaCl-Zufuhr kombiniert mit KHCO_3 . Dargestellt sind MW \pm SD. Wilcoxon Test: Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,012$.

Ausscheidung von titrierbaren Säuren, Bicarbonat und Ammonium

Die Ausscheidung von titrierbaren Säuren und Ammonium war signifikant niedriger wenn bei hoher NaCl-Zufuhr gleichzeitig KHCO_3 supplementiert wurde (TA: 7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $11,47 \pm 2,39$ mmol/d; 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $-2,91 \pm 1,22$ mmol/d, Wilcoxon Test: $p=0,012$, NH_4^+ : 7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $49,21 \pm 7,45$ mmol/d; 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $34,83 \pm 3,22$ mmol/d, t-test: $p<0,001$) während die Bicarbonatausscheidung bei gleichzeitiger KHCO_3 -Gabe signifikant höher war (7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $24,86 \pm 3,99$ mmol/d; 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $71,42 \pm 4,84$ mmol/d, Wilcoxon Test: $p=0,012$).

4.2.4 Stickstoffbilanz

In Abbildung 4.17 ist die Stickstoffbilanz bei hoher NaCl-Zufuhr – in einem Studienteil mit KHCO_3 ergänzt – dargestellt. Diese war in beiden Studienteilen im Mittel positiv, d.h. es wurde weniger Stickstoff im Urin ausgeschieden als mit der Nahrung aufgenommen wurde (7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $1,94 \pm 1,25$ g/d, 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $1,94 \pm 0,75$ g/d). In Einzelfällen war die Stickstoffbilanz bei alleiniger hoher NaCl-Zufuhr negativ (Minimum: -0,79 g/d). Zwischen den Stickstoffbilanzen der beiden Studienteile besteht jedoch kein Unterschied, der auf die zusätzliche KHCO_3 -Supplementation zurückzuführen ist (ANOVA *repeated measures*: $p=0,550$, „*treatment*“ Effekt).

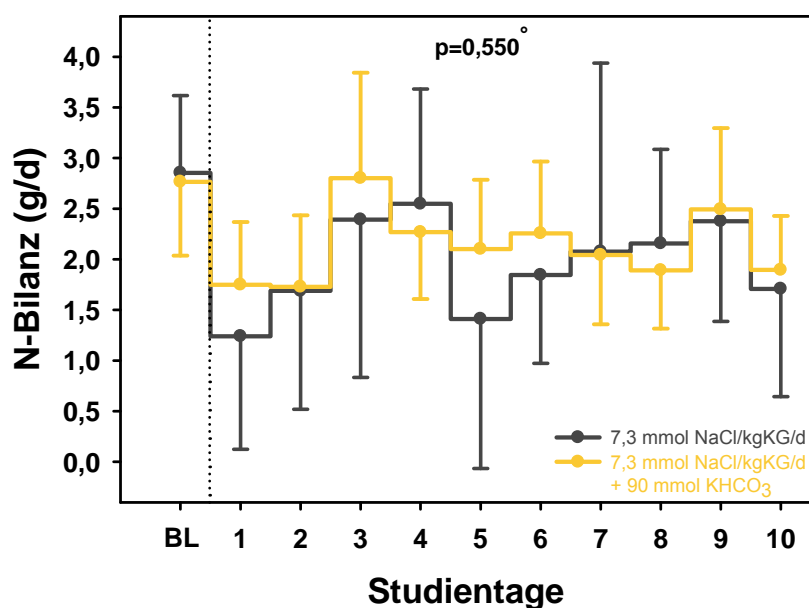


Abbildung 4.17 Stickstoff(N)-Bilanz (g/d) bei hoher NaCl-Zufuhr, welche in einem Studienteil mit KHCO_3 ergänzt wurde. Dargestellt sind $MW \pm SD$ der Baseline-Messung und der Studientage 1 – 10. ANOVA: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,550$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,224$.

In Übereinstimmung mit der Stickstoffbilanz der Salty Life 7-Studie weisen die Daten auch hier große interindividuelle Streuungen auf: So beträgt die mittlere Stickstoffbilanz bei hoher NaCl-Zufuhr beispielsweise an Tag 7 2,08 g/d. Die individuellen Daten streuen allerdings von -0,30 g/d bis +5,63 g/d. Ein Proband reagiert auf die zusätzliche KHCO_3 -Supplementation mit einem deutlichen Anstieg der Stickstoffbilanz, die anderen zeigen konsistent keine Veränderung.

4.2.5 Postabsorptiver Gesamtkörper-Proteinstoffwechsel

In beiden Studienteilen waren alle *Tracer/Tracee*-Verhältnisse erwartungsgemäß im *steady state*-Plateau (T150-180) signifikant höher als bei *Baseline*-Messung (T0) (t-test: $p < 0,001$).

Tabelle 4.6 *Tracer/Tracee*-Verhältnisse an Tag +1 zur *Baseline*-Messung (T0) und während der konstanten Infusion von D5Phe und D2Tyr (T150-T180). Dargestellt sind MW \pm SD. *t-test: Unterschied zwischen *Baseline* und *steady state*-Plateau (MW T150-180).

	T0	T150	T165	T180	MW T150-T180	p-Wert*
	D5Phe/Phe MW \pm SD					
7,3 mmol NaCl/kgKG/d	0,38 \pm 0,15	7,23 \pm 0,74	7,35 \pm 0,82	7,52 \pm 0,82	7,37 \pm 0,79	$p < 0,001$
7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO ₃	0,43 \pm 0,26	7,11 \pm 0,89	7,36 \pm 0,74	7,35 \pm 0,80	7,28 \pm 0,78	$p < 0,001$
	D2Tyr/Tyr MW \pm SD					
7,3 mmol NaCl/kgKG/d	17,92 \pm 0,09	21,91 \pm 0,56	22,07 \pm 0,47	22,13 \pm 0,50	22,04 \pm 0,50	$p < 0,001$
7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO ₃	17,83 \pm 0,14	21,86 \pm 0,45	22,04 \pm 0,45	22,17 \pm 0,49	22,02 \pm 0,43	$p < 0,001$
	D4Tyr/Tyr MW \pm SD					
7,3 mmol NaCl/kgKG/d	1,02 \pm 0,07	2,58 \pm 0,21	2,63 \pm 0,25	2,68 \pm 0,26	2,63 \pm 0,24	$p < 0,001$
7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO ₃	1,02 \pm 0,05	2,52 \pm 0,24	2,56 \pm 0,23	2,57 \pm 0,23	2,55 \pm 0,23	$p < 0,001$

4.2.5.1 Proteolyse

In Abbildung 4.18 ist die *Rate of appearance* von Phenylalanin für beide Studienteile dargestellt. Im Nüchternzustand kann diese der Proteolyserate gleichgesetzt werden. Diese betrug bei hoher NaCl-Zufuhr $60,84 \pm 7,49 \mu\text{mol}/\text{min}$, bei gleichzeitiger KHCO_3 Supplementation $61,95 \pm 6,72 \mu\text{mol}/\text{min}$. Die KHCO_3 Supplementation hatte laut statistischer Auswertung keinen Einfluss auf die Proteolyserate bei hoher NaCl-Zufuhr (t-test: $p=0,616$).

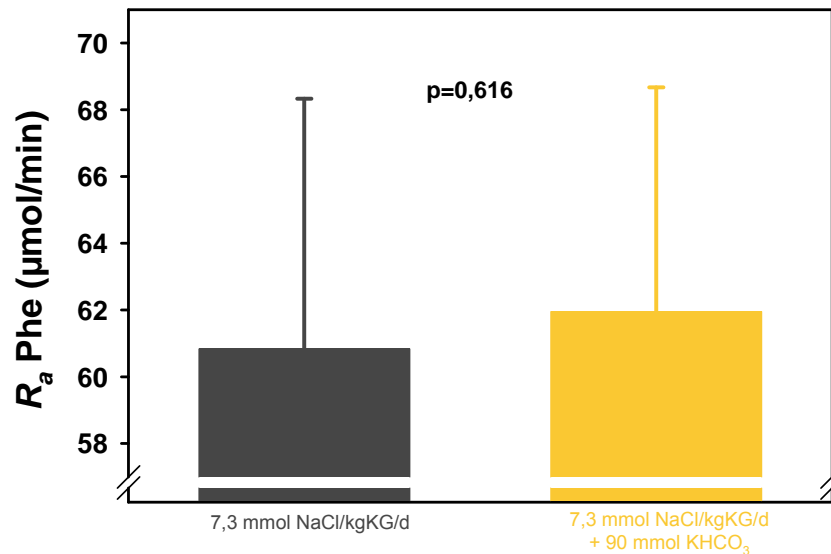


Abbildung 4.18 Rate of appearance (R_a) von Phenylalanin (Phe) ($\mu\text{mol}/\text{min}$) bei hoher NaCl-Zufuhr, in einem Studienteil ergänzt durch KHCO_3 . Dargestellt sind $\text{MW} \pm \text{SD}$. t-test: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,616$.

4.2.5.2 Aminosäureabbau

Die Hydroxylierung von Phenylalanin zu Tyrosin ist der erste irreversible Schritt des Abbaus der Aminosäure. Bei hoher NaCl-Zufuhr hat die gleichzeitige KHCO_3 Supplementation zu einer fast signifikanten Verringerung der Hydroxylierungsrate von Phenylalanin geführt (t-test: $p=0,052$) (s. Abbildung 4.19): Bei hoher NaCl-Zufuhr betrug diese $6,41 \pm 1,02 \mu\text{mol}/\text{min}$, während bei gleichzeitiger KHCO_3 Supplementation nur $5,78 \pm 1,12 \mu\text{mol}$ Phenylalanin pro Minute hydroxyliert wurden.

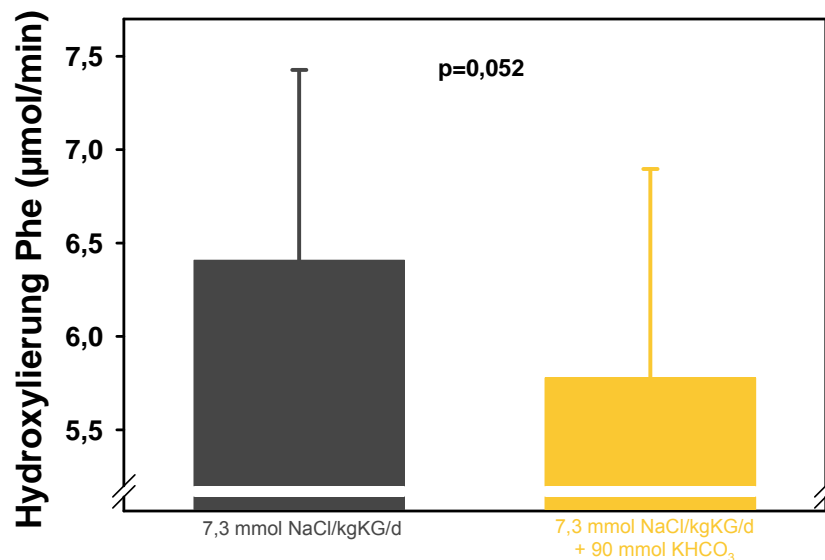


Abbildung 4.19 Hydroxylierung von Phenylalanin (Phe) ($\mu\text{mol}/\text{min}$) bei hoher NaCl-Zufuhr bzw. hoher NaCl-Zufuhr ergänzt mit KHCO_3 . Dargestellt sind $\text{MW} \pm \text{SD}$. t-test: Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,052$.

4.2.5.3 Proteinbiosynthese

In Abbildung 4.20 ist die Proteinbiosyntheserate für beide Studienteile dargestellt. Diese betrug bei hoher NaCl-Zufuhr $54,43 \pm 7,17 \mu\text{mol}/\text{min}$, bei gleichzeitiger KHCO_3 Supplementation $56,17 \pm 6,32 \mu\text{mol}/\text{min}$. Bei hoher NaCl-Zufuhr beeinflusste die gleichzeitige KHCO_3 Supplementation die Proteinbiosyntheserate nicht (t-test: $p=0,389$).

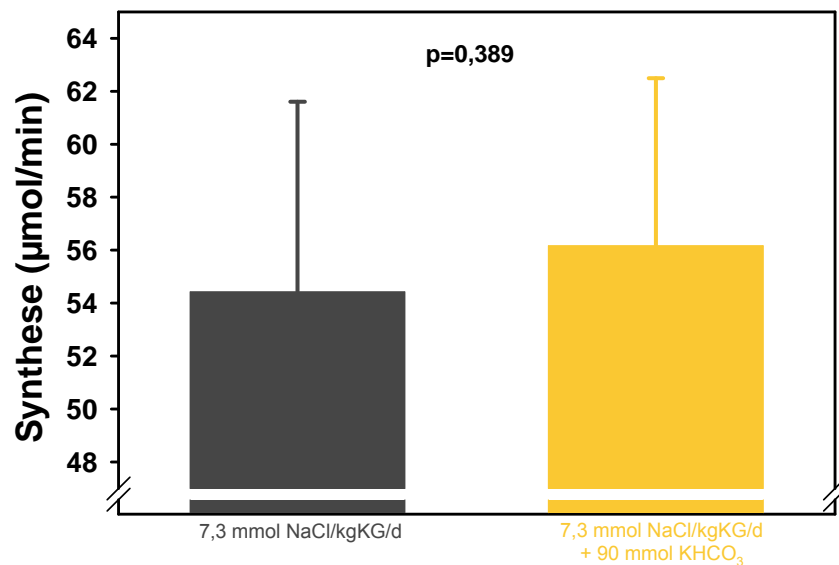


Abbildung 4.20 Proteinbiosynthese ($\mu\text{mol}/\text{min}$) bei hoher NaCl-Zufuhr, in einem Studienteil ergänzt durch KHCO_3 . Dargestellt sind $\text{MW} \pm \text{SD}$. t-test: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,389$.

4.2.6 IGF-1-Konzentration im Serum

In Tabelle 4.7 ist die IGF-1-Konzentration im Serum zusammengefasst. Diese lag bei hoher NaCl-Zufuhr bei $482,21 \pm 129,91$ ng/ml, bei gleichzeitiger KHCO_3 -Supplementation bei $494,91 \pm 149,21$ ng/ml. Es besteht kein Unterschied zwischen den beiden Studienteilen, der abhängig von der KHCO_3 -Supplementation ist (ANOVA *repeated measures* (\bullet): $p=0,518$, „*treatment*“ Effekt). Allerdings ist das Ausgangsniveau der IGF-1-Konzentration zu Beginn der hohen NaCl-Zufuhr mit gleichzeitiger KHCO_3 -Supplementation signifikant höher als ohne diese (t-test: $p=0,002$).

Tabelle 4.7 IGF-1-Konzentration im Serum (ng/ml) bei hoher NaCl-Zufuhr, welche in einem Studienteil mit KHCO_3 ergänzt wurde. Dargestellt sind MW \pm SD für die Baseline-Messung sowie für die Tage 3, 6, 8 und 10. ANOVA: kein Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,518^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,717$.

	Intervention				
	BL	Tag 3	Tag 6	Tag 8	Tag 10
	IGF-1-Konzentration im Serum (ng/ml) MW \pm SD				
7,3 mmol NaCl/kgKG/d	441,30 $\pm 106,85$	465,21 $\pm 115,4$	489,47 $\pm 135,81$	476,62 $\pm 131,14$	497,53 $\pm 158,39$
7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3	501,20 $\pm 126,76$	487,33 $\pm 159,25$	511,61 $\pm 173,95$	471,54 $\pm 135,33$	509,19 $\pm 153,05$
p-Wert	0,002	$p=0,518^\circ$			

4.2.7 Ausscheidung von freiem Cortisol und Cortison im 24h-Urin

Abbildung 4.21 zeigt die Ausscheidung der freien, potentiell bioaktiven Glucocorticoide Cortisol (UFF) und Cortison (UFE, s. 4.1.6) im 24h-Urin bei hoher NaCl-Zufuhr, welche in einem Studienteil durch KHCO_3 -Gabe ergänzt wurde. Im Mittel wurden bei hoher NaCl-Zufuhr täglich $193,65 \pm 52,75$ μg freie, potentiell bioaktive GC ausgeschieden, bei gleichzeitiger Einnahme von KHCO_3 hingegen nur $165,77 \pm 28,64$ μg (ANOVA *repeated measures*: $p=0,024$, „*treatment*“ Effekt). Dies ist auf eine geringere mittlere Ausscheidung von freiem Cortisol bei hoher NaCl-Zufuhr zurückzuführen, wenn KHCO_3 supplementiert wurde (7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $80,53 \pm 31,76$ $\mu\text{g}/\text{d}$; 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $65,18 \pm 16,53$ $\mu\text{g}/\text{d}$; ANOVA *rep. measures* (∞), „*treatment*“ Effekt: $p=0,013$). Die Ausscheidung des freien Cortisons hingegen war bei KHCO_3 -Supplementation unverändert (7,3 mmol NaCl/kgKG/d: $113,12 \pm 25,96$ $\mu\text{g}/\text{d}$; 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + 90 mmol KHCO_3 : $100,59 \pm 17,19$ $\mu\text{g}/\text{d}$; ANOVA *rep. measures*, „*treatment*“ Effekt: $p=0,08$).

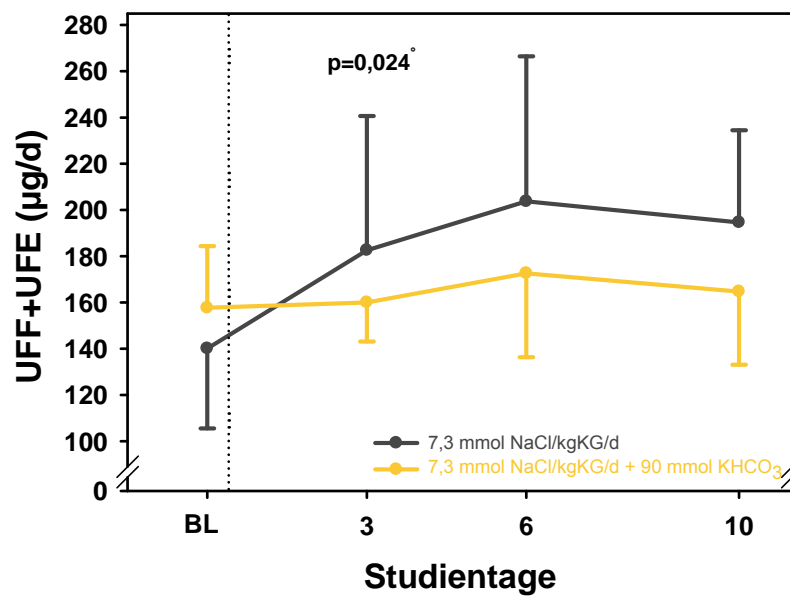


Abbildung 4.21 Ausscheidung von freiem Cortisol (UFF) und freiem Cortison (UFE) im 24h-Urin ($\mu\text{g/d}$) bei hoher NaCl-Zufuhr, welche in einem Studienteil durch KHCO_3 ergänzt wurde. Dargestellt sind $\text{MW} \pm \text{SD}$ der Baseline-Messung sowie der Studientage 3, 6 und 10. ANOVA: Unterschied zwischen 7,3 mmol NaCl/kgKG/d und 7,3 mmol NaCl/kgKG/d + KHCO_3 : $p=0,024^\circ$. Kein Unterschied im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Intervention: $p=0,842$.

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden der Einfluss einer hohen NaCl-Zufuhr und der Einfluss einer Kaliumbicarbonat Supplementation bei hoher NaCl-Zufuhr auf den Säure-Basen-Status und Parameter des Proteinstoffwechsels gesunder Probanden untersucht. Da Veränderungen innerhalb der Normbereiche erwartet wurden, sind die entsprechenden Untersuchungen unter standardisierten und streng kontrollierten Studienbedingungen durchgeführt worden.

In der Salty Life 7-Studie wurde in Immobilisation mit hoher NaCl-Zufuhr (7,0 mmol NaCl/kgKG/d, entspricht bei 75 kg 30 g NaCl) eine vergleichsweise niedrige Konzentration systemischer Pufferbasen festgestellt. Als Kontrolle diente ein Studienteil mit einer NaCl-Zufuhr von 0,7 mmol NaCl/kgKG/d (entspricht bei 75 kg 3 g NaCl). Renale immobilisationsbedingte Stickstoffverluste stiegen mit hoher NaCl-Zufuhr sukzessiv an, so dass diese nach 14 Tagen 180% höher waren als in der Kontrollphase. Parallel war die Ausscheidung freien Cortisols massiv erhöht.

In der Salty Life 8-Studie waren der systemische pH-Wert und die Konzentration der Pufferbasen postprandial erhöht, wenn zur hohen NaCl-Zufuhr (7,3 mmol NaCl/kgKG/d) drei Mal täglich 30 mmol Kaliumbicarbonat (KHCO_3) supplementiert wurden. Parallel war die Netto-Säureausscheidung deutlich reduziert. Obwohl die KHCO_3 -Supplementation keinen Einfluss auf die Stickstoffbilanz hatte, bewirkte sie eine fast signifikante Reduktion des Netto-Abbaus von Phenylalanin. Gleichzeitig war die Ausscheidung potentiell bioaktiver Glucocorticoide durch das Supplement verringert.

5.1 Einfluss der hohen NaCl-Zufuhr auf Säure-Basen-Status und Proteinstoffwechsel

Die hohe NaCl-Zufuhr hat während Immobilisation zu einer geringeren Konzentration der systemischen Pufferbasen ($[\text{HCO}_3^-]$ und BE) im Nüchtern Blut geführt. Diese Veränderungen traten innerhalb der entsprechenden Normbereiche auf. Der pH-Wert im Blut war nur moderat reduziert. Diese Veränderungen des Säure-Basen-Status werden unter der Bezeichnung ‚latente metabolische Azidose‘ zusammengefasst (Pizzorno et al. 2010; Vormann and Goedecke 2006).

Die Ergebnisse zeigen prinzipiell, dass es in Immobilisation zu ähnlichen, NaCl-induzierten Veränderungen des systemischen Säure-Basen-Status kommt, wie bereits unter ambulanten Konditionen von Frings-Meuthen et. al (Frings-Meuthen et al. 2008a) dargestellt. Die

Steigerung der NaCl-Zufuhr von 0,7 über 2,8 auf 7,7 mmol Na/kgKG/d bewirkte in der Untersuchung von Frings-Meuthen et al. jedoch eine signifikante Verringerung des pH-Werts (pH $7,41 \pm 0,01$ vs. $7,39 \pm 0,01$, $p=0,04$), während der Vergleich von 0,7 und 7,0 mmol NaCl/kgKG/d in der Salty Life 7-Studie nur einen Trend zeigte ($p=0,06$). Auf der einen Seite ist denkbar, dass die charakteristische Mobilisation von Calciumsalzen aus dem Knochen in Immobilisation (Baecker et al. 2003) eine zusätzliche Quelle für systemische Pufferbasen darstellt und auf diesem Wege in der Salty Life 7-Studie einer pH-Wert Änderung vorgebeugt hat. Auf der anderen Seite kann die vergleichsweise eingeschränkte Wirkung der hohen NaCl-Zufuhr in der Salty Life 7-Studie jedoch auch auf die gleichzeitige partielle Alkalisierung durch das NaHCO_3 -haltige Mineralwasser zurückzuführen sein. Zudem zeigen die Daten der Salty Life 7-Studie, dass bereits geringe pH-Wert Veränderungen im gesunden Organismus z.T. respiratorisch kompensiert werden: Durch eine kompensatorisch höhere Abatmung von CO_2 erfolgt eine Anpassung des Verhältnisses von $[\text{HCO}_3^-]/\text{CO}_2$. Da beide Untersuchungen unter standardisierten und kontrollierten Bedingungen an gesunden Versuchspersonen durchgeführt wurden und trotzdem auch bei Frings-Meuthen et al. keine Veränderungen des pH-Werts außerhalb des Normbereiches auftraten, ist der Einfluss der NaCl-Zufuhr auf den pH-Wert des gesunden Organismus daher grundsätzlich als gering zu beurteilen. Unsere Ergebnisse liefern keinen klaren Hinweis auf eine veränderte Wirkung von NaCl auf den Säure-Basen-Status in Immobilisation.

Die Ursache der latent azidogenen Wirkung von NaCl wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Grundsätzlich kann eine latente metabolische Azidose beim Gesunden entweder infolge eines Übermaßes an exogen zugeführten, nicht vollständig metabolisierbaren Säureanionen und/oder endogen gebildeten organischen Säuren oder infolge einer relativen Reduktion der renalen NaHCO_3 -Reabsorption, der Aufnahme von Alkalkationen (mit vollständig metabolisierbaren organischen Säureanionen) und/oder der gastrointestinalen Absorption von NaHCO_3 entstehen. Frings-Meuthen et al. vermuten darüber hinaus eine erhöhte Freisetzung von H^+ -Ionen als Grund für die metabolische Veränderung bei hoher NaCl-Zufuhr. Diese könnte zum einen durch einen elektroneutralen Na^+/H^+ -Austausch an extrazellulären Polysacchariden, den Glycosaminoglycanen (GAG) verursacht werden. So stellten Heer et al. (Heer et al. 2009) fest, dass eine hohe NaCl-Zufuhr zur erhöhten mRNA Expression von zwei GAG-Polymerisationsgenen führt. Die Autoren vermuten, dass die GAGs bei hoher Natriumzufuhr als Ionenaustauscher funktionieren, so dass Natrium osmotisch inaktiv gespeichert und im Austausch H^+ -Ionen in den EZR abgegeben werden. Diese Vermutungen beruhen auf Beobachtungen aus Tierversuchen, die zeigen, dass der GAG-Gehalt in der Haut von Ratten bei hoher NaCl-Zufuhr ansteigt (Titze et al. 2004). Weiterhin diskutieren Frings-Meuthen et al. eine erhöhte Aktivität des Na^+/H^+ -Antiporters bei

hoher NaCl-Zufuhr. In beiden Fällen würde demnach der Metabolismus des Natriumions bei hoher NaCl-Zufuhr eine gesteigerte Freisetzung von H^+ -Ionen herbeiführen, deren Konsequenz wiederum die beobachtete Reduktion der systemischen Pufferbasen wäre. Im Gegensatz dazu interpretieren Frassetto et al. (Frassetto et al. 2007) die Differenz zwischen Natrium- und Chloridkonzentration im Serum ($[Na^+]:[Cl^-]$) als Ursache der NaCl-induzierten Störung des Säure-Basen-Haushalts. Wie beschrieben (vgl. 2.2.1) unterliegt die Kontrolle von $[Na^+]$ engen Grenzen (Guyton and Hall 2000b). Durch den Anstieg von $[Cl^-]$ entsteht folglich bei hoher NaCl-Zufuhr ein reduziertes $[Na^+]:[Cl^-]$ Gefälle welches nach Stewart (Stewart 1983) zu einer Verkleinerung der sog. *strong ion difference* (SID) führt. Die Reduktion von $[HCO_3^-]$ wäre demnach Ausdruck einer Wahrung der Elektroneutralität. Die Ergebnisse von Frassetto et al. bekräftigen diese Theorie: Nach Adjustierung auf die Säurelast der Diät und pCO_2 wurde bei einem Kollektiv von 77 gesunden Versuchspersonen eine direkte Korrelation zwischen Chloridaufnahme und $[HCO_3^-]$ beobachtet. Für die aktuelle Arbeit liegen keine Ergebnisse zum GAG-Gehalt und/oder der Na^+/H^+ -Antiporteraktivität vor. Daher kann die Hypothese von Frings-Meuthen et al. hier nicht unmittelbar bestätigt werden. Jedoch war $[Cl^-]$ in der Salty Life 7-Studie bei konstanter $[Na^+]$ (Frings-Meuthen 2008) erhöht. Daher unterstützen unsere Ergebnisse die Theorie von Frassetto et al., dass $[HCO_3^-]$ bei hoher NaCl-Zufuhr aufgrund der Dysbalance von $[Na^+]:[Cl^-]$ kompensatorisch reduziert wird. Zusätzlich hatte die hohe NaCl-Zufuhr in der Salty Life 7-Studie eine Suppression des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) zur Folge (Beck et al. 2007). Auch diese könnte an den NaCl-induzierten Veränderungen des systemischen Säure-Basen-Status beteiligt sein, da das RAAS u.a. eine Reduktion der Aktivität des tubulären Na^+/H^+ -Antiporters bewirkt (Silbernagel 2001). Dies könnte bei hoher NaCl-Zufuhr renale Basenverluste und eine sekundär verringerte Konzentration systemischer Pufferbasen verursacht haben.

Die Netto-Säureausscheidung (NAE) war in der Salty Life 7-Studie an den letzten beiden Tagen bei hoher NaCl-Zufuhr um durchschnittlich 30 mEq/d verringert. Dies ist auf eine verringerte Ausscheidung titrierbarer Säuren und eine erhöhte Ausscheidung von HCO_3^- zurückzuführen. In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen war der pH-Wert im 24h-Urin bei hoher NaCl-Zufuhr höher als bei niedriger NaCl-Zufuhr. Dies ist Folge der Alkalisierung der NaCl-reichen Diät mit $NaHCO_3$ -haltigem Wasser von durchschnittlich 54 mEq/d. Den parallel beobachteten azidogenen Veränderungen im Blut bei hoher NaCl-Zufuhr kommt vor diesem Hintergrund eine besondere Bedeutung zu: Trotz nennenswerter Alkalilast bewirkt die hohe NaCl-Zufuhr systemisch eine niedrigere Konzentration systemischer Pufferbasen als bei niedriger NaCl-Zufuhr.

Abschließend kann die Ursache der NaCl-induzierten latenten metabolischen Azidose nicht eindeutig identifiziert werden, ist aber vermutlich Folge eines renalen Ausgleichs der unphysiologisch hohen NaCl-Zufuhr in Form einer verminderten renalen NaHCO_3 -Reabsorption. Diese könnte u.a. durch die Suppression des RAAS ausgelöst werden und würde bei ggf. vergrößerter SID dazu beitragen, die Elektroneutralität zu wahren. In diesem Fall würde NaCl nicht primär zur metabolischen Azidose mit folgendem Signal zur renalen Kompensation dieser führen, sondern vielmehr eine renale Anpassung der NaHCO_3 -Reabsorption bewirken, welche wiederum den systemischen Säure-Basen-Status beeinträchtigt. Einschränkend muss angemerkt werden, dass die NaCl-Zufuhr der Interventionsgruppe mit 7 mmol NaCl/kgKG/d unphysiologisch hoch, diejenige der Kontrollgruppe mit 0,7 mmol NaCl/kgKG/d sehr niedrig war und die Veränderungen des systemischen Säure-Basen-Status' möglicherweise lediglich infolge dieses großen Unterschiedes sichtbar waren.

Die Immobilisation hat in beiden Studienteilen der Salty Life 7-Studie zu einer negativen Stickstoffbilanz geführt. Bei hoher NaCl-Zufuhr wurden die kumulativen renalen Stickstoffverluste innerhalb von 14 Tagen um 180% verstärkt. Gleichzeitig war die Ausscheidung des aktiven Glucocorticoids Cortisol um 55% gesteigert.

Immobilisationsbedingte Stickstoffverluste wie in der Salty Life 7-Studie wurden bereits von anderen Autoren beschrieben (Scheld et al. 2001; Ferrando et al. 1996; SCHONHEYDER et al. 1954). Diese gehen sowohl bei Aufhalten im All (Stein and Schluter 1997; Leonard et al. 1983) als auch in Simulationsmodellen mit einer Atrophie der Skelettmuskulatur einher: So fanden Gibson et al. (Gibson et al. 1987) nach 37 ± 4 Tagen unilateraler Immobilisation des Unterschenkels eine Abnahme der muskulären Proteinbiosynthese um 25%. Übereinstimmend zeigten Ferrando et al. (Ferrando et al. 1996) nach 14-tägiger HDTBR eine Abnahme der muskulären Proteinbiosynthese um 50%, welche sie als Hauptursache der 13%igen Reduktion der Gesamtkörper-Proteinbiosynthese interpretieren. Daher spiegeln vermutlich auch die immobilisationsbedingten Stickstoffverluste in der Salty Life 7-Studie den Abbau von Muskelprotein wider. Lange Zeit wurden diese Proteinverluste, im All wie auf der Erde, nur auf eine verminderte Proteinbiosynthese zurückgeführt (Stein et al. 1999; Stein and Schluter 1997; Stein et al. 1996; Ferrando et al. 1996; Stein et al. 1993), Veränderungen der Proteinabbaurate wurden bislang nicht festgestellt (Biolo et al. 2004; Ferrando et al. 1996; Gibson et al. 1987). Neuere, sensitivere Methoden zeigen jedoch, dass auch ein erhöhter Proteinabbau im skelettalen Muskel ursächlich an der negativen Proteinbilanz beteiligt zu sein scheint (Tesch et al. 2008).

Doch der Stickstoffhaushalt bei niedriger NaCl-Zufuhr regeneriert sich in der Salty Life 7-Studie nach anfänglichen immobilisationsbedingten Verlusten: Die Bilanz der letzten Tage in HDTBR ist positiv. So entstanden kumulativ über den Zeitraum von 14 Tagen nur 39,3 g renale Proteinverluste. Dies stimmt mit den Daten früher Untersuchungen von Schoenheyder et al. (SCHONHEYDER et al. 1954) überein: Bei konstanter Protein- und NaCl-Zufuhr erreichte die Stickstoffausscheidung nach zehn Tagen ihr Maximum und sank im Anschluss wieder. Die ausgeglichene Stickstoffbilanz auf einem insgesamt verringerten Niveau des Gesamtkörper-Proteingehalts kann als physiologische Adaptation an die „Nichtnutzung“ der Muskulatur interpretiert werden. Im Gegensatz dazu waren die immobilisationsbedingten renalen Proteinverluste bei hoher NaCl-Zufuhr auf kumulative 110,4 g verstärkt. Eine hohe NaCl-Zufuhr scheint demnach ein zusätzlicher kataboler Stimulus für den Proteinstoffwechsel zu sein. Die hohe inter-individuelle Varianz zeigt jedoch, dass die Ergebnisse dieser Arbeit in zusätzlichen Untersuchungen an größeren Kollektiven bestätigt werden müssen.

Parallel zu den um 180% erhöhten renalen Proteinverlusten war die Aktivität funktionaler Glucocorticoide (fGcA), gemessen als Summe der Ausscheidung freier, potentiell bioaktiver Glucocorticoide (GC, freies Cortisol (UFF) und Cortison (UFE)) im 24h-Urin, mit hoher NaCl-Zufuhr tendenziell erhöht. Die Ausscheidung des eigentlich aktiven GC, des freien Cortisols war dabei um 55% gesteigert. Folglich ist eine erhöhte Cortisolaktivität vermutlich an dem katabolen Regulationsmechanismus der hohen NaCl-Zufuhr beteiligt. So steigert die Infusion von Cortisol bei gesunden Versuchspersonen die Gesamtkörper-Proteolyserate um 10 bis 20% und verstärkt parallel den muskulären Efflux von Aminosäuren (Brillon et al. 1995; Garrel et al. 1995; Darmaun et al. 1988; Simmons et al. 1984). Tierversuche und Untersuchungen an Patienten mit akuter Sepsis weisen darauf hin, dass die katabole Wirkung des Cortisols u.a. auf einer direkten Stimulation des Ubiquitin-Proteasom-Systems (UPS) zur Proteolyse beruht (Tiao et al. 1997; Price et al. 1994). Zudem haben Wernerman et al. (Wernerman et al. 1989) dargestellt, dass die Infusion von Cortisol im humanen Skelettmuskel zu einer Verminderung der Ribosomenzahl um $26,9 \pm 8,6\%$ führt. Dies deutet auf eine zusätzliche Hemmung der Proteinbiosynthese durch das Steroidhormon hin. Die dynamischen Aspekte des Proteinstoffwechsels in der Salty Life 7-Studie können aufgrund fehlender zusätzlicher Untersuchungen hier nicht beurteilt werden. Die statischen Messergebnisse legen jedoch eine ergänzende Untersuchung von Proteolyse- und Proteinbiosyntheseraten in zukünftigen Studien nahe, um einen vollständigen Einblick in die Regulation des Proteinstoffwechsels bei hoher NaCl-Zufuhr zu erhalten.

Auch der Zusammenhang zwischen GC-Aktivität und NaCl-Zufuhr wurde bereits zuvor untersucht. Ehrlich et al. (Ehrlich 1966) haben bereits in den 1970er Jahren eine inverse Beziehung zwischen Aldosteron und Cortisolausscheidung bei hoher NaCl-Zufuhr festgestellt: Die Einnahme von NaCl-Tabletten (16 g NaCl/d; bei 75 kg: 3,65 mmol Na/kgKG/d) hat bei fünf männlichen Versuchsperson parallel zur Abnahme der Aldosteronausscheidung die Cortisolausscheidung im 24h-Urin erhöht (ca. 48,8 µg/d vs. 94,4 µg/d). Diese inverse Beziehung der Steroidhormone zeigten Lewicka et al. (Lewicka et al. 1998) auch bei niedriger NaCl-Zufuhr (20 mmol/d, bei 75 kg: 0,27 mmol Na/kgKG/d) im Vergleich zu einer anähernd bevölkerungsdurchschnittlichen NaCl-Zufuhr (200 mmol/d, bei 75 kg: 2,67 mmol Na/kgKG/d). Bei niedriger NaCl-Zufuhr war die Ausscheidung von Aldosteron innerhalb von zwei Tagen erhöht und diejenige von freiem Cortisol und Tetrahydrocortisol verringert (124 ± 41 nmol/d vs. 86 ± 41 nmol/d; $5,9 \pm 1,5$ µmol/d vs. $4,9 \pm 1,7$ µmol/d).

Wie beschrieben wurde in der Salty Life 7-Studie bei hoher NaCl-Zufuhr zudem eine latente metabolische Azidose mit Veränderungen des Säure-Basen-Status innerhalb des Normbereichs festgestellt. Diese kann einseits sowohl Ursache der höheren fGcA sein, andererseits auch an der katabolen Wirkung einer erhöhten fGcA beteiligt sein. Beide Aspekte werden im Folgenden erörtert.

Die Wechselwirkung zwischen manifesten Veränderungen des Säure-Basen-Status und GC-Aktivität wurde vielfach *in vitro* und im Tierversuch demonstriert (May et al. 1996; Price et al. 1994; England and Jurkovitz 1992). U.a. deuten die Ergebnisse von Remer et al. (Remer et al. 1998) jedoch an, dass es im Humanorganismus bereits bei latenter metabolischer Azidose zu Veränderungen des GC-Status kommen kann. In einer *crossover design* Studie an sechs gesunden Versuchspersonen wurde mit Reduktion der Proteinzufuhr (95 vs. 120 vs. 49 g Protein/d) ein Rückgang der UFF beobachtet. Gleichzeitig begünstigt eine hohe Proteinzufuhr die Entstehung einer latenten metabolischen Azidose (Remer and Manz 1994). Daher vermutet McCarty (McCarty 2005), dass die erhöhte Cortisolausscheidung der Versuchspersonen von Remer et al. aufgrund milder, proteininduzierter Veränderungen des Säure-Basen-Status entstanden ist. Demzufolge können auch die moderaten NaCl-induzierten Veränderungen des systemischen Säure-Basen-Status in der Salty Life 7-Studie eine höhere Aktivität funktionaler Glucocorticoide ausgelöst haben.

Die katabole Wirkweise der metabolischen Azidose ist in Kapitel 2.3.3 erläutert. Es gibt eine Vielzahl an Hinweisen, dass diese auf einer Wechselwirkung mit der fGcA basiert. So deuten Ergebnisse aus Tierversuchen darauf hin, dass die Verfügbarkeit von GC an der Mediation des Proteinabbaus bei metabolischer Azidose beteiligt ist (May et al. 1996): Ratten wurden

hier nach Adrenalectomie randomisiert in vier Gruppen eingeteilt: 1. Azidämie (pH: $7,10 \pm 0,02$) ohne GC-Supplementation, 2. Azidämie (pH: $7,11 \pm 0,06$) mit GC-Supplementation, 3. Kontrolle (pH: $7,42 \pm 0,02$) ohne GC-Supplementation und 4. Kontrolle (pH: $7,40 \pm 0,01$) mit GC-Supplementation. Das Paarfütterungs-Protokoll hat eine unterschiedliche Säurelast der Diät als potentielle Störvariable ausgeschlossen. Der muskuläre Proteinabbau der azidotischen Ratten ohne GC-Supplementation ($37,8 \pm 3,9 \mu\text{mol Leu}/100\text{gKG/h}$) entsprach demjenigen der Kontroll-Ratten ($37,7 \pm 2,3 \mu\text{mol Leu}/100\text{gKG/h}$). Mit GC-Supplementation hingegen stieg dieser bei den azidotischen Ratten an ($46,3 \pm 3,3 \mu\text{mol Leu}/100\text{gKG/h}$, $p < 0,05$). Übereinstimmend zeigen Studien an CRF-Patienten, dass die GC-Level vermutlich einerseits vom Ausprägungsgrad der Azidose abhängig sind und andererseits eine zentrale Rolle im Katabolismus des skelettalen Muskels spielen (Garibotto et al. 1994): Die Plasma Cortisolkonzentration korreliert invers mit $[\text{HCO}_3^-]$ und direkt mit der Netto-Proteolyserate.

Das erhöhte Stickstoffaufkommen beim Katabolismus der metabolischen Azidose wird von einer gesteigerten NH_3 -Produktion begleitet, welche die H^+ -Exkretion in Form von NH_4^+ vereinfacht. Auch dazu scheint die Verfügbarkeit bioaktiver GC notwendig zu sein (Kinsella et al. 1984). In der Salty Life 7-Studie ist jedoch trotz erhöhter Stickstoffverluste kein Unterschied der NH_4^+ -Ausscheidung zwischen beiden Studienteilen festzustellen. Dies ist vermutlich auf eine Effektvermischung aus hoher renaler Alkalilast und GC-stimuliertem NH_3 -Transport zurückzuführen: Die GC scheinen zwar den tubulären NH_3 -Transport zu stimulieren, letztendlich ist allerdings das tubuläre Protonenvorkommen maßgebend für die NH_4^+ -Ausscheidung (Karim et al. 2006). Dieses war bei hoher NaCl-Zufuhr infolge der vergleichsweise hohen renalen Alkalilast reduziert, so dass hier eine deutlich geringere NH_4^+ -Ausscheidung als bei niedriger NaCl-Zufuhr und leicht säurelastiger Diät zu erwarten wäre. Die Tatsache, dass die NH_4^+ -Ausscheidung in beiden Studienteilen jedoch nahezu identisch war, lässt vermuten, dass es bei hoher NaCl-Zufuhr zwar zu einem GC-gesteigerten NH_3 -Transport gekommen ist, dieser jedoch durch die vergleichsweise hohe renale Alkalilast und das dementsprechend geringe tubuläre Protonenvorkommen maskiert war.

Über die vermehrte Aktivität der Glucocorticoide hinaus wird bei metabolischer Azidose auch eine Adaptation des Proteinstoffwechsels durch Hemmung des anabolen Stoffwechselhormons IGF-1 diskutiert. Ballmer et al. (Ballmer et al. 1995) haben an acht gesunden Versuchspersonen mit NH_4Cl -induzierter metabolischer Azidose neben einer Steigerung der Stickstoffausscheidung ($1012 \pm 180 \text{ mmol/d}$ vs. $1377 \pm 236 \text{ mmol/d}$) eine Suppression des Hormons ($42,5 \pm 15,4 \text{ mmol/l}$ vs. $31,6 \pm 14,7 \text{ mmol/l}$) gefunden. Laut Schakman et al. (Schakman et al. 2009) ist die verminderte Expression von IGF-1 bei

metabolischer Azidose sogar Auslöser der GC-induzierten Proteinverluste: Im Tiermodell hat IGF-1 die GC-induzierte lysosomale und proteosomale Proteolyse gehemmt (Latres et al. 2005; Dehoux et al. 2004). Sowohl eine Administration als auch eine lokale Überexpression des Hormons haben die GC-induzierte Muskelatrophie vermindert (Schakman et al. 2005; Fournier et al. 2003). In der Salty Life 7-Studie wurde mit NaCl-induzierter latenter metabolischer Azidose keine Veränderung der Serumkonzentration des Hormons festgestellt. Dies kann auf den vergleichsweise geringen Ausprägungsgrad der latenten metabolischen Azidose zurückzuführen sein. Nach Fournier et al. und Schakman et al. ist daher denkbar, dass die katabolen Eigenschaften der GC hier infolge der unveränderten IGF-1-Spiegel nicht ihr volles Wirkungsspektrum entwickelten. Allerdings lässt sich nicht abschließend sagen, ob in der Salty Life 7-Studie bei hoher NaCl-Zufuhr tatsächlich volle IGF-1-Bioaktivität bestand, da die Bindungsaktivität der regulierenden Bindungsproteine nicht untersucht wurde.

Zusammengefasst wurden die immobilisationsbedingten Proteinverluste in der Salty Life 7-Studie durch die hohe NaCl-Zufuhr gesteigert. An dieser physiologischen Adaptation an die hohe NaCl-Zufuhr scheint eine Wechselwirkung aus erhöhter Cortisolaktivität und NaCl-induzierter latenter metabolischer Azidose beteiligt zu sein. Die Rolle von IGF-1 muss in diesem Zusammenhang in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

In der Salty Life 7-Studie wurden keine muskelspezifischen Biomarker des Proteinstoffwechsels erhoben. Generell verliert jedoch die Muskulatur bei Veränderungen des Gesamtkörper-Proteinstoffwechsels das Gros an Protein, da sie den größten Proteinanteil hat (Welle 1998). Zudem gibt es Anzeichen aus Tierversuchen und Untersuchungen an Patienten, dass Proteinverluste, welche infolge einer Wechselwirkung aus fGcA und latenter metabolischer Azidose entstehen, aus dem skelettalen Muskel stammen: Im Tierversuch haben die metabolische Azidose, eine erhöhte fGcA sowie deren Wechselwirkung vorwiegend Proteinverluste im skelettalen Muskel verursacht (Cappuccio et al. 1999; Price et al. 1998; Bailey et al. 1996; England et al. 1995; Maniar et al. 1994; Mitch et al. 1994; May et al. 1987a; May et al. 1987b; May et al. 1986). Darüber hinaus reduziert die Korrektur der metabolischen Azidose chronisch niereninsuffizienter Patienten den Aminosäureefflux aus dem Muskel (Lofberg et al. 2006) und die Ausscheidung von 3-Methyl-Histidin, einem Biomarker des skelettalen Muskelabbaus (Williams et al. 1991a). Die zusätzlichen NaCl-induzierten Stickstoffverluste die in der Salty Life 7-Studie innerhalb von 14 Tagen entstanden sind (11,37 g) würden einem Verlust an fettfreier Körpermasse (FFM, *fat free mass*) von 0,36 kg (Stickstoffanteil in FFM: 3,2% (Forbes 1994)) entsprechen. Diese

Annahme über den Ursprung des NaCl-induzierten Proteinkatabolismus muss jedoch in weiteren Humanstudien an gesunden Versuchspersonen bestätigt werden.

5.2 Einfluss der KHCO_3 -Supplementation bei hoher NaCl-Zufuhr auf Säure-Basen-Status und Proteinstoffwechsel

Zusammenfassend wurde in der Salty Life 8-Studie im Nüchternzustand kein Einfluss des KHCO_3 auf den pH-Wert, die Pufferbasen oder die Blutgase beobachtet. Auch wenn die Einnahme des KHCO_3 s eine Erhöhung der Bicarbonatkonzentration im Nüchternblut ausgelöst zu haben schien, ist als Ursache dieser vielmehr das erhöhte Ausgangsniveau vor KHCO_3 -Supplementation anzunehmen. Dies bekräftigt auch der vergleichsweise hohe BE vor der KHCO_3 -Supplementation. Indessen waren der postprandiale pH-Wert und die Konzentration systemischer Pufferbasen nach der Gabe von 30 mmol KHCO_3 zur NaCl-reichen Mahlzeit deutlich erhöht. Die Netto-Säureausscheidung (NAE) war bei KHCO_3 -Supplementation verringert.

Die in der Salty Life 8-Studie beobachteten postprandialen Effekte der KHCO_3 -Supplementation stimmen mit Beobachtungen aus der Anästhesie überein. Zur kurzfristigen Kompensation der akuten intraoperativen NaCl-induzierten hyperchlorämischen Azidose werden auch hier alkalische Mineralsalze eingesetzt. So konnten Rehm und Finsterer (Rehm and Finsterer 2003) durch Infusion von NaHCO_3 bei zwölf weiblichen Versuchspersonen eine akute intraoperative NaCl-induzierte hyperchlorämische Azidose (pH: $7,278 \pm 0,016$, $[\text{HCO}_3^-]$: $18,4 \pm 0,4$ mmol/l) kurzfristig kompensieren: pH-Wert und $[\text{HCO}_3^-]$ stiegen unmittelbar nach Start der Infusion an (pH: $7,440 \pm 0,019$, $[\text{HCO}_3^-]$: $26,5 \pm 1,4$ mmol/l) und sanken im Laufe der folgenden 20 Minuten wieder leicht ab (pH: $7,379 \pm 0,014$, $[\text{HCO}_3^-]$: $23,6 \pm 0,8$ mmol/l). Die Hyperchlorämie blieb derweil unverändert ($117 \pm 2,4$ mmol/l vs. $114 \pm 2,1$ mmol/l). Auch wenn die Reaktionskinetik nach IV-Applikation alkalischer Mineralsalze nur eingeschränkt mit derjenigen nach oraler Gabe vergleichbar ist, wurde auch in der Salty Life 8-Studie eine Stunde nach KHCO_3 -Gabe zunächst ein Anstieg der metabolischen Komponenten des Säure-Basen-Status ($[\text{HCO}_3^-]$ und BE) beobachtet. Demzufolge kam es auch zu einem geringen, aber sichtbaren Anstieg des pH-Werts. Entsprechend der Beobachtungen von Rehm und Finsterer wird dies auch hier reguliert: Eine leichte alveoläre Hypoventilation und der daraus resultierende tendenzielle Anstieg des pCO_2 normalisieren das Konzentrationsverhältnis $[\text{HCO}_3^-]:[\text{CO}_2]$ und gleichen so den pH-Wert-Anstieg innerhalb von zwei Stunden aus. $[\text{HCO}_3^-]$ und BE sind jedoch auch zweieinhalb Stunden nach Einnahme des KHCO_3 s noch unverändert höher als ohne diese. Allerdings überdauert dieser Effekt die

nächtliche Nahrungskarenz nicht. Vergleichsdaten zur systemischen Pufferkapazität im Nüchternblut bei Alkalisalzgabe sind in der einschlägigen Literatur nicht verzeichnet.

Ursache der begrenzten Effektdauer des Alkalisalzes auf den systemischen Säure-Basen-Status kann hier ein offensichtlich rascher renaler Kompensationsmechanismus der hohen Alkalisalzzufuhr sein. Überschüssige Basen die im Metabolismus exogen zugeführter Alkalisalze entstehen, werden renal ausgeschieden sobald deren glomeruläre Filtrationsrate die Rate der Reabsorption überschreitet (Guyton and Hall 2000a; Davenport 1974). So war die HCO_3^- -Ausscheidung in der Salty Life 8-Studie bei KHCO_3 -Supplementation um 187% erhöht und die NAE u.a. infolgedessen verringert. Dieses Ergebnis spiegelt die renale Anpassung zur Kompensation bzw. Prävention einer metabolischen Alkalose wider (Scheid 1999). So haben auch Lindinger et al. (Lindinger et al. 2000) an sechs gesunden, männlichen Versuchspersonen gezeigt, dass die Ausscheidung von $[\text{TA} - \text{HCO}_3^-]$ bei durchschnittlicher NaCl-Zufuhr bereits 20 Minuten nach einer sehr hohen Aufnahme von KHCO_3 und NaHCO_3 (3,57 mmol/kgKG/1h, bei 75 kg: 278,5 mmol/1h) massiv ansteigt: Innerhalb von 210 Minuten nach Ende der Infusion wurden $23 \pm 3\%$ (NaHCO_3) bzw. $25 \pm 3\%$ (KHCO_3) der aufgenommenen Basen wieder ausgeschieden. Um die Pufferkapazität steigern zu können, ist es demnach u.a. erforderlich, dass diese die Nierenschwelle nicht überschreitet. Entscheidende Faktoren in diesem Zusammenhang sind Dosis, Zeitpunkt und Frequenz der Einnahme des Salzes.

Während die Alkalisalzmenge zur Kompensation der metabolischen Azidose in der Klinik individuell in Abhängigkeit vom BE berechnet (Basenbedarf (mmol) = BE (mmol/l)*0,3*kgKG (Scheid 1999)) und anschließend infundiert wird, ist in der Grundlagenforschung zur Prävention/Kompensation der diätinduzierten latenten metabolischen Azidose und deren Sekundärerscheinungen eine standardisierte orale Aufnahme üblich. In diesem Zusammenhang ist bislang wenig bekannt über a.) die optimale Dosis, b.) den idealen Abstand der Einnahme zur Mahlzeit und c.) die effizienteste Frequenz, um die latente metabolische Azidose und deren Sekundärerscheinungen zu kompensieren und gleichzeitig Nebenwirkungen zu vermeiden. Als solche werden gastrointestinale Beschwerden beschrieben, die Resultat der Reaktion von Magensäure und HCO_3^- sind (Alpern and Sakhaee 1997).

In der Forschung am muskuloskelettalen System hat sich eine Supplementationsdosis von 60 – 120 mmol/d etabliert (Ceglia et al. 2009; Dawson-Hughes et al. 2009; Frassetto et al. 1997; Sebastian et al. 1994; LEMANN, Jr. et al. 1989), welche aus operationellen Gründen i.A. unabhängig vom tatsächlichen Säure-Basen-Status der Versuchspersonen und deren Körpergewicht gegeben wird. Frassetto et al. (Frassetto et al. 2005) zeigten an 170 postmenopausalen Frauen mit der Gabe von 30, 60 oder 90 mmol KHCO_3 /d eine

dosisabhängige Abnahme der Calciumausscheidung im 24h-Urin. Möglicherweise ist diese Dosisabhängigkeit auf das Maß der Neutralisierung der Diät zurückzuführen und die Wirkung alkalischer Mineralsalze auf den Säure-Basen-Status somit ebenfalls dosisabhängig. Da jedoch keine Wirkungsschwelle der Salze bekannt ist, wäre eine Dosissteigerung zum jetzigen Zeitpunkt vermutlich aufgrund der o.g. Nebenwirkungen vielmehr mit einer verminderten Compliance verbunden als mit einem nachgewiesenen höheren Maß an Neutralisation. Der Fokus sollte daher zunächst auf einer Maximierung der Bioverfügbarkeit der Salze liegen.

Die Bioverfügbarkeit eines Nährstoffs und somit die Wechselwirkungen mit anderen Nährstoffen beeinflussen den metabolischen Wirkungsgrad eines Nährstoffs maßgeblich. Zur Absorptionshemmung und/oder -förderung von KHCO_3 liegen keine Untersuchungen vor, so dass keine Empfehlung bzgl. des idealen Abstands der Salzeinnahme zur Mahlzeit existiert. Allerdings haben Voruntersuchungen im Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin des DLR gezeigt, dass die Einnahme von 45 mmol KHCO_3 eine halbe Stunde vor, während oder eine Stunde nach einer NaCl-reichen Mahlzeit keine unterschiedliche Konzentration systemischer Pufferbasen bewirkt (Böhme 2008). Daher wird zunächst davon ausgegangen, dass in der Salty Life 8-Studie während der Mahlzeit keine Wechselwirkungen zwischen KHCO_3 und anderen Nährstoffen stattgefunden haben und der metabolische Wirkungsgrad des Salzes vom Einnahmezeitpunkt unbeeinflusst war. Nichtsdestotrotz sollten diese Ergebnisse in weiteren Untersuchungen bestätigt werden, da die genannte Untersuchung an einem sehr heterogenen Kollektiv mit kleiner Fallzahl ($n=10$, KG: 77 ± 14 kg) durchgeführt wurde.

Auch zur Relevanz der Einnahmefrequenz alkalischer Mineralsalze sind keine Angaben in der Literatur vorhanden. Sofern dokumentiert, scheint die Einteilung auf drei Tagesdosen üblich zu sein (Dawson-Hughes et al. 2009; Jehle et al. 2006; Frassetto et al. 2005; Lutz 1984). Burckhardt et al. hingegen untersuchen seit einigen Jahren, inwiefern die Aufnahme alkalisierender Mineralwässer eine Minderung der Knochenresorption hervorruft (Wynn et al. 2009a; Wynn et al. 2009b; Burckhardt 2008; Buclin et al. 2001). Neben dem Einfluss auf den Knochen ist denkbar, dass ein Durstlöscher zur Erhöhung der Konzentration systemischer Pufferbasen effizienter als drei Tagesdosen sein könnte, da $[\text{HCO}_3^-]$ durch die „Dauerbelastung“ konstant unterhalb der Nierenschwelle gesteigert werden könnte. Leider stehen aus Burckhardts Untersuchungen keine Parameter des systemischen Säure-Basen-Status zur Verfügung (Wynn 2010). In der Salty Life 7-Studie allerdings hat die regelmäßige Aufnahme des NaHCO_3 -haltigen Mineralwassers bei hoher NaCl-Zufuhr die Konzentration systemischer Pufferbasen nicht auf dasselbe Niveau gesteigert wie bei niedriger NaCl-Zufuhr ohne gleichzeitige NaHCO_3 -Aufnahme (s. 5.1). Dieses wurde bis zu sieben Mal täglich

aufgenommen und die Konzentration systemischer Pufferbasen war bei hoher NaCl-Zufuhr trotzdem geringer als bei niedriger NaCl-Zufuhr. Auch wenn die kontinuierliche Aufnahme von Alkalisalzen in Form von Mineralwasser aus o.g. Gründen möglicherweise die effizienteste Form der Alkalisupplementation darstellt, so legen die Beobachtungen in der Salty Life 7-Studie nahe, dass auch diese bei hoher NaCl-Zufuhr in der Salty Life 8-Studie keine beständige Steigerung der systemischen Pufferbasen bewirkt hätte.

Zusammenfassend liegen demnach keine eindeutigen Anhaltspunkte vor, dass die begrenzte Wirkung des KHCO_3 in der Salty Life 8-Studie speziell ein Resultat der KHCO_3 -Dosis, des Abstands der Supplementation zur Mahlzeit oder der Frequenz der Einnahme ist. Daher stellt sich die Frage, ob bei hoher NaCl-Zufuhr ein beständiger Ausgleich der verminderten Konzentration systemischer Pufferbasen durch exogene KHCO_3 -Zufuhr möglich ist.

Laut Stewart (Stewart 1983) kann eine beständige Veränderung von $[\text{HCO}_3^-]$ nur durch eine ebensolche der SID oder der Konzentration schwacher Säuren ($[\text{A}^-]$) stattfinden. Demnach würde die exogene Zufuhr alkalischer Mineralsalze speziell bei hoher NaCl-Zufuhr nur eingeschränkte Wirkung zeigen, da die leichte Hyperchlorämie als Ursache der verminderten Konzentration systemischer Pufferbasen bestehen bleibt. Auch in der Salty Life 8-Studie wurde $[\text{Cl}^-]$ nicht von der KHCO_3 -Supplementation beeinflusst. Nach Stewart konnten die Pufferbasen daher maximal kurzfristig gesteigert werden. Ergebnisse von Sharma et al. (Sharma et al. 1993) scheinen die Stewart-Theorie in diesem Punkt zu unterstützen: Die Autoren supplementierten Natriumcitrat (0,7 mmol Natriumcitrat/kgKG/d, bei 75 kg: 52,5 mmol Natriumcitrat/d) bei moderat erhöhter (240 mmol NaCl/d, bei 75 kg: 3,2 mmol NaCl/kgKG/d) und bei niedriger NaCl-Zufuhr (20 mmol NaCl/d, bei 75 kg: 0,3 mmol NaCl/kgKG/d) um die Regulation des Säure-Basen-Status' der sieben NaCl-sensitiven und acht NaCl-resistenten Versuchspersonen zu untersuchen. Die Daten deuten an, dass $[\text{HCO}_3^-]$ in beiden Gruppen bei niedriger NaCl-Zufuhr stärker durch Natriumcitrat gesteigert wird als bei hoher NaCl-Zufuhr. Cogan et al. (Cogan et al. 1990) interpretieren dieses Phänomen als Anzeichen, dass NaCl den Schwellenwert zur renalen Regulation von $[\text{HCO}_3^-]$ im Plasma herabsetzt. Die Ergänzung einer Netto-säureproduzierenden Diät mit niedrigem NaCl-Gehalt durch 2 mmol NaHCO_3 /kgKG/d (bei 75 kg: 150 mmol NaHCO_3 /d) hat hier Plasma ($[\text{HCO}_3^-]$ postprandial: $28,9 \pm 1,3$ mEq/l) und Urin alkalisiert, die gleichzeitige Steigerung der NaCl-Zufuhr um 2 mmol NaCl/kgKG/d hat den alkalisierenden Effekt im Plasma wieder aufgehoben ($[\text{HCO}_3^-]$ postprandial: $24,9 \pm 1,2$ mEq/l), während NAE und HCO_3^- -Ausscheidung unverändert waren. Laut Lehrbuch liegt die Nierenschwelle für $[\text{HCO}_3^-]$ bei einer Plasma-Konzentration > 28 mmol/L (Davenport 1974). Bei Cogans Versuchspersonen

scheint diese bei erhöhter NaCl-Zufuhr auf ca. 25 mmol/l herabgesetzt zu sein. Auch die mittlere postprandiale $[\text{HCO}_3^-]$ in der Salty Life 8-Studie betrug bei KHCO_3 -Supplementation ca. 25,65 mmol/l; maximale Durchschnittswerte betragen 26 mmol/l. Dennoch war die HCO_3^- -Ausscheidung bereits massiv erhöht. Diese Beobachtungen unterstützen also die Theorie Cogan's der NaCl-bedingten Herabsetzung des Schwellenwerts zur Regulation von $[\text{HCO}_3^-]$. Auch im Sinne des Stewart-Konzepts zeigen die Ergebnisse, dass $[\text{HCO}_3^-]$ bei hoher NaCl-Zufuhr von einer exogenen KHCO_3 -Zufuhr dauerhaft unbeeinflusst bleibt.

Zusammenfassend stehen diese Ergebnisse folglich in Einklang mit der Vermutung, die hohe NaCl-Zufuhr bewirke eine renale Anpassung der NaHCO_3 -Reabsorption, welche den systemischen Säure-Basen-Status beeinträchtigt (s. 5.1). Die orale Administration von KHCO_3 hat in der Salty Life 8-Studie die Konzentration systemischer Pufferbasen also vermutlich nicht kontinuierlich erhöht, weil der Schwellenwert der renalen Regulation von $[\text{HCO}_3^-]$ bei hoher NaCl-Zufuhr herabgesetzt ist. Möglicherweise ist die Suppression des RAAS an dieser Regulation beteiligt. Die kurzfristige Steigerung von $[\text{HCO}_3^-]$ trotz beständiger Hyperchlorämie ist als vorübergehende Unregelmäßigkeit bis zur Kompensation durch die glomeruläre Filtration zu betrachten.

Nichtsdestotrotz kann bereits die kurzfristige Steigerung der systemischen Pufferbasen metabolische Konsequenzen in sekundär betroffenen Systemen haben. So hat die KHCO_3 -Supplementation in der Salty Life 8-Studie bei hoher NaCl-Zufuhr die Biomarkerausscheidung für funktionale GC-Aktivität reduziert. Die Hydroxylierungsrate von Phenylalanin, einem Frühmarker des Netto-Proteinabbaus, war fast signifikant vermindert. Dennoch waren innerhalb der zehntägigen Interventionsphase keine Unterschiede in der Stickstoffbilanz zu erkennen.

In der Salty Life 7-Studie hat die hohe NaCl-Zufuhr zu einer 14%igen Steigerung der Biomarkerausscheidung für funktionale GC-Aktivität (fGcA) und einer 55%igen Steigerung der Ausscheidung des aktiven GCs Cortisol geführt (s. 5.1). Bei gleichzeitiger Supplementation von KHCO_3 war die Biomarkerausscheidung der fGcA in der Salty Life 8-Studie um 14% und die Ausscheidung freien Cortisols um 19% vermindert. In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen haben auch Maurer et al. (Maurer et al. 2003) durch die Supplementation von 0,55 mmol $\text{KHCO}_3/\text{kgKG}/\text{d}$ (bei 75 kg: 41,25 mmol/d) bei einer Netto-säureproduzierenden Diät (NAE: 83 ± 5 mmol/d) eine Verringerung der Cortisolkonzentration im Nüchternblut (14%) gezeigt. Die Autoren führen diese auf die Kompensation der diätinduzierten latenten metabolischen Azidose durch die exogene Zufuhr alkalischer Mineralsalze zurück. Hier war die Konzentration systemischer Pufferbasen jedoch

auch im Nüchternblut erhöht ($[\text{HCO}_3^-]$: $24,8 \pm 0,3$ mmol/l vs. $25,6 \pm 0,3$ mmol/l). Scheinbar war in der Salty Life 8-Studie jedoch bereits die temporäre Kompensation der NaCl-induzierten Azidose ausreichend, um die erhöhte fGcA zumindest teilweise zu regulieren. Diese Ergebnisse bestätigen die Vermutung, dass die Veränderungen des systemischen Säure-Basen-Status' Auslöser der erhöhten fGcA bei hoher NaCl-Zufuhr in der Salty Life 7-Studie waren (vgl. 5.1).

Man vermutet, dass die GC bei metabolischer Azidose an der Steigerung des Aminosäureabbaus und der entsprechenden Freisetzung von Glutamin aus dem Muskel sowie der tubulären Ammoniogenese beteiligt sind (May et al. 1986; Kinsella et al. 1984). Folglich würden sie die Ausscheidung des erhöhten Protonenaufkommens in Form von NH_4^+ erleichtern und zu diesem Zweck Muskelprotein mobilisieren. Indirekt wurde dies auch in der Salty Life 7-Studie bestätigt (vgl. 5.1). Umgekehrt kommt es bei Alkalisierung und verminderter GC-Aktivität zu einer Reduktion der NH_4^+ -Ausscheidung. So beobachteten beispielsweise Maurer et al. (s. oben) parallel zur alkaliinduzierten Abnahme der Cortisolkonzentration im Blut eine 20%ige Verminderung der NH_4^+ -Ausscheidung (61 ± 4 mmol/d vs. 28 ± 2 mmol/d). Auch in der Salty Life 8-Studie war die NH_4^+ -Ausscheidung mit KHCO_3 -Supplementation um 29% verringert. Dies stellt eine physiologische Anpassung an den verminderten Pufferbedarf zur Protonenausscheidung dar. Frassetto et al. (Frassetto et al. 1997) haben bei einer bevölkerungsdurchschnittlichen NaCl-Zufuhr parallel zur alkaliinduzierten Verringerung der NH_4^+ -Ausscheidung auch eine Verringerung der Stickstoffverluste und somit der Proteinmobilisation festgestellt. Durch die Supplementation von 60 – 120 mmol KHCO_3 wurde die NH_4^+ -Ausscheidung der 14 postmenopausalen Versuchsteilnehmer von 671 ± 83 mg/d auf 287 ± 90 mg/d und die Gesamtstickstoffausscheidung von $13,988 \pm 625$ mg/d auf $13,193 \pm 510$ mg/d reduziert. In der Salty Life 8-Studie hingegen war die Stickstoffbilanz bei hoher NaCl-Zufuhr unverändert wenn gleichzeitig KHCO_3 supplementiert wurde. Übereinstimmend mit Frassetto et al. fanden auch Ceglia et al. (Ceglia et al. 2009) eine Reduktion renaler Stickstoffverluste bei Supplementation von 90 mmol KHCO_3 (Na^+ -Zufuhr 2565 ± 107 mg/d (ca. 6,5 g NaCl/d) vs. 2705 ± 140 mg/d (ca. 6,9 g NaCl/d)). Mit dem Ausgleich der proteininduzierten (120 g Protein/d) latenten metabolischen Azidose (NAE: $33,9 \pm 8,2$ mEq/g Creatinin vs. $-23,1 \pm 22,0$ mEq/g Creatinin) stieg hier jedoch, bei unveränderter Aktivität des Bindungsprotein IGFBP-3 (*IGF-Binding-Protein-3*), die IGF-1-Konzentration im Serum. Wie zuvor diskutiert (vgl. 5.1) ist IGF-1 möglicherweise entscheidend an der Wirkung der GC auf den Proteinstoffwechsel beteiligt. Da in der Salty Life 8-Studie die regulierenden Bindungsproteine von IGF-1 nicht untersucht wurden, kann aus der unveränderten IGF-1 Serum-Konzentration nicht auf eine unveränderte Bioaktivität des Hormons geschlossen werden. Dennoch könnte hier eine

unveränderte IGF-1-Bioaktivität zur Konstanz der Stickstoffbilanz bei Supplementation alkalischer Mineralsalze beigetragen haben.

Auch wenn die Stickstoffbilanz bei hoher NaCl-Zufuhr in der Salty Life 8-Studie nicht durch die KHCO_3 -Supplementation beeinträchtigt war, wurde die Hydroxylierungsrate von Phenylalanin zu Tyrosin um $0,63 \mu\text{mol}/\text{min}$ verringert. Die Proteinbiosynthese- und Proteolyseraten waren derweil unverändert. Beim Gesunden ist eine verringerte Aktivität der Phenylalanin-Hydroxylase entweder auf einen verringerten Tyrosinbedarf oder auf ein reduziertes Signal zur irreversiblen Elimination von Phenylalanin zurückzuführen. Ein verringerter Bedarf der bedingt essentiellen Aminosäure entsteht infolge vermehrter alimentärer Bereitstellung. Da die Diät in beiden Studienteilen der Salty Life 8-Studie identisch war, ist ein reduziertes Signal zur Elimination von Phenylalanin Ursache des verringerten Katabolismus bei KHCO_3 -Supplementation gewesen. Somit dient die Hydroxylierungsrate von Phenylalanin hier als Marker des Netto-Gesamtkörper-Proteinkatabolismus. Im Gegensatz zur Stickstoffbilanz ermöglicht die *Tracer Dilution*-Technik eine sehr sensitive Detektion kleiner Veränderungen des Gesamtkörper-Proteinstoffwechsels, bevor diese zu manifesten Veränderungen des Gesamtkörper-Proteingehalts führen: Die Hydroxylierungsrate von Phenylalanin wird daher als Frühmarker für Veränderungen des Gesamtkörper-Proteinstoffwechsels genutzt. Die Stickstoffbilanz hingegen stellt auch bei kontrollierten Studienbedingungen Veränderungen erst ab ca. 0,1% des Gesamtkörper-Proteingehalts (100% bei 75 kg: 12 kg (Welle 1998)) fest.

Wie beschrieben hat die Gabe von drei Mal 30 mmol KHCO_3 bei hoher NaCl-Zufuhr nur zu temporären Steigerungen von systemischem pH-Wert und der Konzentration der Pufferbasen, jedoch zu keiner kontinuierlichen Veränderung des Säure-Basen-Status geführt. Entsprechend kann die potentiell antikatabole Wirkung KHCO_3 bei hoher NaCl-Zufuhr auf reduzierte Raten des Aminosäureabbaus beschränkt sein, da NaCl-induzierte Veränderungen im Säure-Basen-Status nur temporär kompensiert werden konnten. Im Gegensatz dazu stellten Frassetto et al. (Frassetto et al. 1997) und Ceglia et al. (Ceglia et al. 2009) bei durchschnittlicher bzw. adäquater NaCl-Zufuhr bereits innerhalb von sechs bzw. zehn Untersuchungstagen signifikante Reduktionen der Stickstoffverluste durch Supplementation alkalischer Mineralsalze fest. Demnach scheint die antikatabole Wirkung von KHCO_3 in der Salty Life 8-Studie aufgrund der Beschränkung der Kompensation der NaCl-induzierten latenten metabolischen Azidose gemindert zu sein.

Zusammenfassend hat vermutlich bereits die vorübergehende Kompensation der latenten metabolischen Azidose bei KHCO_3 -Supplementation die NaCl-induzierte Steigerung der fGcA gemindert. Diese hat daher auch bei hoher NaCl-Zufuhr einen antikatabolen Einfluss

auf den Aminosäureabbau. Allerdings scheint sie nicht auszureichen, um NaCl-induzierte Proteinverluste vollständig zu verhindern.

5.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Die gewonnenen Erkenntnisse zum Einfluss einer hohen NaCl-Zufuhr und einer KHCO_3 -Supplementation bei hoher NaCl-Zufuhr auf den Säure-Basen-Status und Proteinstoffwechsel gesunder Versuchspersonen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- I. Die konstante NaCl-Belastung bewirkte während der 14-tägigen Immobilisation eine, im Vergleich zur niedrigen NaCl-Zufuhr, latente metabolische Azidose. Diese ist vermutlich Folgeerscheinung einer Adaptation des Elektrolythaushalts und dessen Regulationsmechanismen an die hohe NaCl-Belastung.
- II. Immobilisationsbedingte Stickstoffverluste nahmen mit hoher NaCl-Zufuhr sukzessiv zu. Diese deuten auf einen erhöhten Abbau von Muskelprotein hin. Auslöser ist vermutlich eine Wechselwirkung aus latenter metabolischer Azidose und erhöhter GC-Aktivität.
- III. Bei hoher NaCl-Zufuhr hat die exogene Zufuhr von KHCO_3 kurzzeitig den pH-Wert und die Konzentration von Pufferbasen im Blut gesteigert. Dieser Anstieg wurde jedoch renal reguliert, so dass die NaCl-induzierten Veränderungen im Säure-Basen-Status nicht langfristig kompensiert werden konnten. Dies ist vermutlich auf einen herabgesetzten Schwellenwert für $[\text{HCO}_3^-]$ bei hoher NaCl-Zufuhr zurückzuführen.
- IV. Vermutlich konnten bereits die temporären Veränderungen des Säure-Basen-Status bei KHCO_3 -Gabe die NaCl-induzierte Steigerung der GC-Aktivität vermindern, so dass der Netto-Proteinabbau moderat reduziert war. Diese Reduktion hatte jedoch keinen Einfluss auf den Gesamtkörper-Proteingehalt.

Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, dass keine manifesten Veränderungen im systemischen Säure-Basen-Status notwendig sind, um innerhalb eines kurzen Zeitraums eine klinische Relevanz für den Erhalt des Gesamtkörper-Proteingehalts und somit funktionaler Masse festzustellen: Die Ergebnisse der Salty Life 7-Studie unterstützen die Vermutung von Frassetto et al. (Frassetto et al. 2008), dass bereits die latente, NaCl-induzierte metabolische Azidose ein Risikofaktor für Muskelmasseverluste sei. Da exogenes KHCO_3 bei hoher NaCl-Zufuhr zum dauerhaften Ausgleich des Säure-Basen-Status ungeeignet zu sein scheint, war der NaCl-induzierte Katabolismus in der Salty Life 8-Studie vermutlich nur partiell reduziert.

Es wird geschätzt, dass sich das Verhältnis der $\text{Na}^+:\text{K}^+$ -, und somit der $\text{Cl}^-:\text{HCO}_3^-$ -Aufnahme in den vergangenen 40000 Jahren von 1:10 zu mehr als 3:1 entwickelt hat. Dieser monovalente Ionenaustausch in der Nährstoffzufuhr wird als Ursache der diätinduzierten latenten metabolischen Azidose betrachtet, welche mit den zeitgenössischen Ernährungsgewohnheiten „zivilisierter“ Völker beobachtet wird (Frassetto et al. 2001). Die Ergebnisse der Salty Life 8-Studie geben Anlass zur Vermutung, dass der diätinduzierten latenten metabolischen Azidose nicht alleine in Form einer Anpassung des Verhältnisses durch Steigerung der KHCO_3 -Zufuhr vorgebeugt werden kann, sondern eine gleichzeitige Reduktion der NaCl -Zufuhr erfolgen sollte.

Aufgrund seiner katabolen Wirkung sollte NaCl bei vulnerablen Gruppen für Muskelmasseverluste als kritischer Nährstoff betrachtet werden. Wie beschrieben zählen auch Weltraumfahrer zu diesen Gruppen (s. 2.1). Für den Aufenthalt im All sollte daher auch unter diesem Gesichtspunkt eine konsequente Restriktion der NaCl -Zufuhr empfohlen werden und eine entsprechende Anpassung der Lebensmittelprogramme erfolgen. Auch Senioren leiden mit fortschreitendem Lebensalter zum einen an einem per se erhöhten Verlust von Muskelmasse und Muskelkraft, der Sarkopenie, und neigen zum anderen zu einer NaCl -Zufuhr oberhalb der Empfehlungen (s. 2.1). Über die individuelle Relevanz hinaus stellt die Sarkopenie, das mit ihr verbundene erhöhte Sturzrisiko sowie die einhergehende Abhängigkeit von der Hilfe anderer eine große gesundheitsökonomische Belastung dar. Z.Zt. erfüllen mehr als 50% der 80-jährigen Amerikaner die Kriterien der Sarkopenie (Baumgartner et al. 1998). Bei einem Anstieg der Lebenserwartung und dem prognostizierten demographischen Wandel (Statistische Ämter des Bundes und der Länder 2008) ist ein mittelfristiger absoluter Anstieg der Sarkopenie zu erwarten. Um ein abwendbares Fortschreiten der Sarkopenie zu vermeiden, sollte generell bei dieser Altersgruppe Wert auf eine moderate NaCl -Zufuhr gelegt und Ernährungskonzepte an diesen Bedarf angepasst werden.

Nichtdestotrotz müssen diese Schlussfolgerungen an entsprechenden Kollektiven o.g. vulnerabler Gruppen bestätigt werden. Auch wenn der Vergleich zwischen sehr hoher und sehr niedriger NaCl -Zufuhr in der Salty Life 7-Studie eine Demonstration des Einflusses einer hohen NaCl -Zufuhr innerhalb sehr kurzer Zeit ermöglicht hat, sind zur Detektion einer alltäglichen Relevanz Langzeituntersuchungen mit moderat erhöhter NaCl -Zufuhr (ca. 10 – 12 g) notwendig. Neben Parametern des Proteinstoffwechsels sollten zudem muskelspezifische Biomarker erhoben und funktionale Tests durchgeführt werden.

6 Zusammenfassung

Einleitung: Die charakteristische metabolische Azidose der akuten Urämie und chronischen Niereninsuffizienz trägt zu den multikausalen Protein- und Muskelmasseverlusten dieser Krankheitsbilder bei. Daher bewirkt ein Ausgleich der Störung des Säure-Basen-Haushalts durch die exogene Zufuhr alkalischer Mineralsalze eine Reduktion des Katabolismus (Rajan and Mitch 2008b). Auch eine hohe NaCl-Zufuhr wird als ein Einflussfaktor des Säure-Basen-Haushalts diskutiert: Diese hat in einer stationären Untersuchung bei ambulanten Versuchspersonen eine latente metabolische Azidose verursacht (Frings-Meuthen et al. 2008d). Inwiefern bereits diese milden Veränderungen des Säure-Basen-Status Proteinverluste verursachen, ist bislang nicht untersucht worden. Jedoch scheint eine sekundäre Steigerung der Protein- bzw. Muskelmasseverluste vulnerabler Bevölkerungsgruppen durch eine hohe NaCl-Zufuhr infolge von Veränderungen des Säure-Basen-Status möglich.

Ziel: Ziel der Arbeit war es, den Einfluss einer hohen NaCl-Zufuhr auf den Säure-Basen-Status und den Stickstoffhaushalt von immobilisierten Probanden zu untersuchen (Salty Life 7). In einer weiteren Studie (Salty Life 8) ist geprüft worden, inwiefern die Supplementation alkalischer Mineralsalze eine mögliche Wirkung des NaCl auf den Säure-Basen-Status und den Proteinstoffwechsel kompensieren kann.

Methodik: Beide Studien sind stationär im *crossover design* an acht gesunden, männlichen Versuchspersonen im Stoffwechsellabor des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt e.V. durchgeführt worden. Die Intervention der Salty Life 7-Studie war eine 14-tägige Immobilisation in 6° Kopftiefe (HDTBR) bei hoher NaCl-Zufuhr (7,0 mmol NaCl/kgKG/d). Als Kontrolle diente ein Studienteil in HDTBR mit niedriger NaCl-Zufuhr (0,7 mmol NaCl/kgKG/d). In der Salty Life 8-Studie wurde eine hohe NaCl-Zufuhr von 7,3 mmol NaCl/kgKG/d in einem Studienteil durch Supplementation eines alkalischen Mineralsalzes (3 x 30 mmol Kaliumbicarbonat (KHCO₃/d) ergänzt. Der andere Studienteil diente als Kontrolle. Den Interventionsphasen beider Studien ging eine Adaptationsphase mit einer NaCl-Zufuhr von 2,8 mmol NaCl/kgKG/d voraus (Salty Life 7: 4 Tage, Salty Life 8: 5 Tage). Die Energie- und Nährstoffzufuhr war in beiden Studien bedarfsdeckend und die Zufuhr der Gesamtenergie, der Makronährstoffe sowie von Natrium, Calcium, Kalium, Wasser und Vitamin D₃ wurde streng kontrolliert. Als Parameter des systemischen Säure-Basen-Status wurden der pH-Wert, die Konzentration der Pufferbasen ([HCO₃⁻] und [BE]), die Gase und die Anionenlücke im Blut, die Chloridkonzentration im

Serum ($[Cl^-]$) sowie der pH-Wert und die Netto-Säureausscheidung (NAE) im 24h-Urin bestimmt und die Säurelast der Diät berechnet. Die Stickstoffbilanz wurde als Differenz aus Stickstoffaufnahme und -ausscheidung im 24h-Urin berechnet. Diese dient der Netto-Bilanzierung des Gleichgewichts aus Proteinbiosynthese und Proteinabbau und somit der Detektion von Veränderungen des Gesamtkörper-Proteingehalts. In der Salty Life 8-Studie ist zusätzlich die postabsorptive Kinetik des Gesamtkörper-Proteinstoffwechsels exemplarisch anhand der Kinetik der essentiellen Aminosäure Phenylalanin bestimmt worden. Als Mediatoren der katabolen Wirkung der metabolischen Azidose auf den Proteinstoffwechsel werden eine Suppression des anabolen Stoffwechselhormons IGF-1 und/oder eine Stimulation der Glucocorticoidaktivität diskutiert. Daher wurde in beiden Studien die IGF-1-Konzentration im Serum sowie die Ausscheidung der freien, potentiell bioaktiven Glucocorticoide (GC) Cortisol (UFF) und Cortison (UFE) im 24h-Urin analysiert.

Ergebnisse: Die hohe NaCl-Zufuhr hat in der Salty Life 7-Studie zu einer hyperchlorämischen latenten metabolischen Azidose geführt ($[HCO_3^-]$: $26,4 \pm 1,36$ mmol/l vs. $25,21 \pm 1,14$ mmol/l, $p < 0,001$; $[Cl^-]$: $99,95 \pm 2,84$ mmol/l vs. $103,38 \pm 2,6$ mmol/l, $p < 0,001$). Parallel war die Ausscheidung der potentiell bioaktiven GC tendenziell erhöht (UFF+UFE: $128,08 \pm 41,12$ μ g/d vs. $146,71 \pm 18,63$ μ g/d, $p = 0,055$). Die hohe NaCl-Zufuhr verstärkte die immobilisationsbedingten Stickstoffverluste im zeitlichen Verlauf der 14-tägigen HDTBR um 180% ($p < 0,001$). In der Salty Life 8-Studie hat die $KHCO_3$ -Supplementation postprandial einen Anstieg des pH-Werts im Blut sowie der Pufferbasen bewirkt: Eine Stunde nach dem Mittagessen war der pH-Wert um 0,005 Einheiten erhöht, wenn zur hohen NaCl-Zufuhr $KHCO_3$ gegeben wurde, während dieser in der Kontrollphase um 0,006 Einheiten sank ($p = 0,031$). $[HCO_3^-]$ und BE waren auch zweieinhalb Stunden nach $KHCO_3$ -Einnahme im Vergleich zur Kontrollphase noch erhöht ($[HCO_3^-]$: $25,05 \pm 1,1$ mmol/l vs. $25,65 \pm 1,15$ mmol/l, $p = 0,002$; BE: $0,64 \pm 0,96$ mmol/l vs. $1,34 \pm 0,93$ mmol/l, $p < 0,001$). Im Nüchternblut war jedoch kein Unterschied der Parameter des systemischen Säure-Basen-Status durch die $KHCO_3$ -Supplementation zu erkennen. Dies ist vermutlich auf eine renale Kompensation der hohen Alkalizufuhr zurückzuführen: Die NAE war bei $KHCO_3$ -Supplementation um 210% verringert ($p = 0,012$). Auch wenn die Stickstoffbilanz in den zehn Tagen der Salty Life 8-Studie nicht durch die $KHCO_3$ -Supplementation beeinflusst wurde ($p = 0,550$), hat diese den Netto-Abbau von Phenylalanin fast signifikant reduziert ($6,41 \pm 1,02$ μ mol/min vs. $5,78 \pm 1,12$ μ mol/min, $p = 0,052$). Dies ist vermutlich auf eine verringerte Aktivität funktionaler GC zurückzuführen (UFF+UFE: $193,65 \pm 52,74$ μ g/d vs. $165,77 \pm 28,64$ μ g/d, $p = 0,024$).

Schlussfolgerung: Eine hohe NaCl-Zufuhr erhöht immobilisationsbedingte renale Stickstoffverluste und stellt so einen Risikofaktor speziell für vulnerable Gruppen bzgl. eines Muskelmasseverlustes dar. In der Salty Life 7-Studie ist dies vermutlich auf die latente metabolische Azidose und die mit dieser einhergehende erhöhte katabole Aktivität funktionaler GC bei hoher NaCl-Zufuhr zurückzuführen. Die Relevanz dieser Beobachtungen für biochemische und funktionale Parameter des Muskelstoffwechsels muss in Langzeitstudien bestätigt werden. Die Supplementation von KHCO_3 bewirkte in der Salty Life 8-Studie keinen dauerhaften Ausgleich der NaCl-induzierten Veränderungen des Säure-Basen-Status, konnte aber dennoch die katabole Wirkung der GC mindern. Somit war der Netto-Abbau von Phenylalanin bei hoher NaCl-Zufuhr moderat reduziert, wenn gleichzeitig KHCO_3 eingenommen wurde. Diese Veränderungen des Proteinstoffwechsels hatten innerhalb von zehn Tagen jedoch noch keinen messbaren Einfluss auf den Gesamtkörper-Proteingehalt. Zusammenfassend hat KHCO_3 bei hoher NaCl-Zufuhr daher nur eingeschränkt antikataboles Potential gezeigt. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass es die azidogene Wirkung des NaCl nicht beständig verhindert hat.

7 Literaturverzeichnis

Alpern RJ, Sakhaee K (1997). The clinical spectrum of chronic metabolic acidosis: homeostatic mechanisms produce significant morbidity. *Am J Kidney Dis* 29: 291-302

Antonione R, Caliandro E, Zorat F, Guarnieri G, Heer M, Biolo G (2008). Whey protein ingestion enhances postprandial anabolism during short-term bed rest in young men. *J Nutr* 138: 2212-2216

Aronson PS (1990). Distribution of Sodium Chloride Across Cell Membranes. In: Seldin DW, Giebisch G (eds) *The Regulation of Sodium and Chloride Balance*. Raven Press, New York, pp 3-22

Baecker N, Tomic A, Mika C, Gotzmann A, Platen P, Gerzer R, Heer M (2003). Bone resorption is induced on the second day of bed rest: results of a controlled crossover trial. *J Appl Physiol* 95: 977-982

Bailey JL, Wang X, England BK, Price SR, Ding X, Mitch WE (1996). The acidosis of chronic renal failure activates muscle proteolysis in rats by augmenting transcription of genes encoding proteins of the ATP-dependent ubiquitin-proteasome pathway. *J Clin Invest* 97: 1447-1453

Bajotto G, Shimomura Y (2006). Determinants of disuse-induced skeletal muscle atrophy: exercise and nutrition countermeasures to prevent protein loss. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 52: 233-247

Ballmer PE (1997). Measurement of albumin synthesis in humans using stable isotopes. *Z Ernährungswiss* 36: 350-351

Ballmer PE, McNurlan MA, Hulter HN, Anderson SE, Garlick PJ, Krapf R (1995). Chronic metabolic acidosis decreases albumin synthesis and induces negative nitrogen balance in humans. *J Clin Invest* 95: 39-45

Battle DC, Sharma AM, Alsheikha MW, Sobrero M, Saleh A, Gutterman C (1993). Renal acid excretion and intracellular pH in salt-sensitive genetic hypertension. *J Clin Invest* 91: 2178-2184

Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, Garry PJ, Lindeman RD (1998). Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol* 147: 755-763

Beck, L., Böhmer, A., May, F., Frings, P., and Heer, M. (2007). Blood pressure behaviour and orthostatic tolerance after 14 days HDBR with low and high dietary NaCl intake. ISGP Annual International Gravitational Physiology Meeting, San Antonio, USA

Bettany GE, Ang BC, Georgiannos SN, Halliday D, Powell-Tuck J (1996). Bed rest decreases whole-body protein turnover in post-absorptive man. *Clin Sci (Lond)* 90: 73-75

Biesalski HK, Grimm P (2002). Taschenatlas der Ernährung. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Biolo G, Ciocchi B, Lebenstedt M, Barazzoni R, Zanetti M, Platen P, Heer M, Guarnieri G (2004). Short-term bed rest impairs amino acid-induced protein anabolism in humans. *J Physiol* 558: 381-388

Biolo G, Heer M, Narici M, Strollo F (2003). Microgravity as a model of ageing. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 6: 31-40

Biolo G, Zorat F, Antonione R, Ciocchi B (2005). Muscle glutamine depletion in the intensive care unit. *Int J Biochem Cell Biol* 37: 2169-2179

Blackwood AM, Sagnella GA, Cook DG, Cappuccio FP (2001). Urinary calcium excretion, sodium intake and blood pressure in a multi-ethnic population: results of the Wandsworth Heart and Stroke Study. *J Hum Hypertens* 15: 229-237

Böhme, G. (2008). Einfluss des Zeitpunktes der Einnahme von Kaliumbicarbonat und seine Auswirkungen auf den Säure-Basen Haushalt. Universität Bonn, Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften

Boron WF (2004). Regulation of intracellular pH. *Adv Physiol Educ* 28: 160-179

Brillon DJ, Zheng B, Campbell RG, Matthews DE (1995). Effect of cortisol on energy expenditure and amino acid metabolism in humans. *Am J Physiol* 268: E501-E513

Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V, Elliott P (2009). Salt intakes around the world: implications for public health. *Int J Epidemiol* 38: 791-813

Buclin T, Cosma M, Appenzeller M, Jacquet AF, Decosterd LA, Biollaz J, Burckhardt P (2001). Diet acids and alkalis influence calcium retention in bone. *Osteoporos Int* 12: 493-499

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz and Max Rubener-Institut (2008). Nationale Verzehrsstudie II. Max Rubener-Institut, Karlsruhe

Burckhardt P (2008). The effect of the alkali load of mineral water on bone metabolism: interventional studies. *J Nutr* 138: 435S-437S

Cappuccio FP, Meilahn E, Zmuda JM, Cauley JA (1999). High blood pressure and bone-mineral loss in elderly white women: a prospective study. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Lancet* 354: 971-975

Caso G, Garlick BA, Casella GA, Sasvary D, Garlick PJ (2004). Acute metabolic acidosis inhibits muscle protein synthesis in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287: E90-E96

Caudarella R, Vescini F, Rizzoli E, Francucci CM (2009). Salt intake, hypertension, and osteoporosis. *J Endocrinol Invest* 32: 15-20

Ceglia L, Harris SS, Abrams SA, Rasmussen HM, Dallal GE, Dawson-Hughes B (2009). Potassium bicarbonate attenuates the urinary nitrogen excretion that accompanies an increase in dietary protein and may promote calcium absorption. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 645-653

Clarke JT, Bier DM (1982). The conversion of phenylalanine to tyrosine in man. Direct measurement by continuous intravenous tracer infusions of L-[ring-2H5]phenylalanine and L-[1-13C] tyrosine in the postabsorptive state. *Metabolism* 31: 999-1005

Cogan MG, Carneiro AV, Tatsuno J, Colman J, Krapf R, Morris RC, Jr., Sebastian A (1990). Normal diet NaCl variation can affect the renal set-point for plasma pH-(HCO₃⁻) maintenance. *J Am Soc Nephrol* 1: 193-199

Cohen RM, Feldman GM, Fernandez PC (1997). The balance of acid, base and charge in health and disease. *Kidney Int* 52: 287-293

Curthoys NP, Gstraunthaler G (2001). Mechanism of increased renal gene expression during metabolic acidosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 281: F381-F390

Curthoys NP, Watford M (1995). Regulation of glutaminase activity and glutamine metabolism. *Annu Rev Nutr* 15: 133-159

Darmaun D, Matthews DE, Bier DM (1988). Physiological hypercortisolemia increases proteolysis, glutamine, and alanine production. *Am J Physiol* 255: E366-E373

Davenport HW (1974). *The ABC of Acid-Base Chemistry*. The University of Chicago Press, Chicago, London

Dawson-Hughes B, Harris SS, Palermo NJ, Castaneda-Sceppa C, Rasmussen HM, Dallal GE (2009). Treatment with potassium bicarbonate lowers calcium excretion and bone resorption in older men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 96-102

de Boer MD, Seynnes OR, di Prampero PE, Pisot R, Mekjavic IB, Biolo G, Narici MV (2008). Effect of 5 weeks horizontal bed rest on human muscle thickness and architecture of weight bearing and non-weight bearing muscles. *Eur J Appl Physiol*

Deetjen P (1994). *Physiologie*. Urban und Schwarzenberg, München

Dehoux M, Van BR, Pasko N, Lause P, Verniers J, Underwood L, Ketelslegers JM, Thissen JP (2004). Role of the insulin-like growth factor I decline in the induction of atrogin-1/MAFbx during fasting and diabetes. *Endocrinology* 145: 4806-4812

DGE (2000). *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr*. Umschau Braus GmbH, Frankfurt am Main

DGE (2004). *Ernährungsbericht*. DGE, Bonn

Dimitriou T, Maser-Gluth C, Remer T (2003). Adrenocortical activity in healthy children is associated with fat mass. *Am J Clin Nutr* 77: 731-736

Ehrlich EN (1966). Reciprocal variations in urinary cortisol and aldosterone in response to increased salt intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 26: 1160-1169

Elliott P (1989). The INTERSALT study: an addition to the evidence on salt and blood pressure, and some implications. *J Hum Hypertens* 3: 289-298

England BK, Chastain JL, Mitch WE (1991). Abnormalities in protein synthesis and degradation induced by extracellular pH in BC3H1 myocytes. *Am J Physiol* 260: C277-C282

England BK, Greiber S, Mitch WE, Bowers BA, Herring WJ, McKean M, Ebb RG, Price SR, Danner DJ (1995). Rat muscle branched-chain ketoacid dehydrogenase activity and mRNAs increase with extracellular acidemia. *Am J Physiol* 268: C1395-C1400

England BK, Jurkovitz C (1992). Effect of glucocorticoids and extracellular pH on protein metabolism in cultured cells. *Miner Electrolyte Metab* 18: 316-319

Ferrando AA, Lane HW, Stuart CA, Davis-Street J, Wolfe RR (1996). Prolonged bed rest decreases skeletal muscle and whole body protein synthesis. *Am J Physiol* 270: E627-E633

Forbes GB (1994). Body Composition: Influence of Nutrition, Disease, Growth and Aging. In: Shils ME, Olson JA, Shike M (eds) *Modern Nutrition in Health and Disease*. Lea & Febiger, Philadelphia, pp 781-804

Fournier M, Huang ZS, Li H, Da X, Cercek B, Lewis MI (2003). Insulin-like growth factor I prevents corticosteroid-induced diaphragm muscle atrophy in emphysematous hamsters. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 285: R34-R43

Franz M, Horl WH (1997). Protein catabolism in acute renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 23: 189-193

Frassetto L, Morris RC, Jr., Sebastian A (1997). Potassium bicarbonate reduces urinary nitrogen excretion in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 254-259

Frassetto L, Morris RC, Jr., Sebastian A (2005). Long-term persistence of the urine calcium-lowering effect of potassium bicarbonate in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 831-834

Frassetto L, Morris RC, Jr., Sellmeyer DE, Todd K, Sebastian A (2001). Diet, evolution and aging--the pathophysiologic effects of the post-agricultural inversion of the potassium-to-sodium and base-to-chloride ratios in the human diet. *Eur J Nutr* 40: 200-213

Frassetto L, Sebastian A (1996). Age and systemic acid-base equilibrium: analysis of published data. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 51: B91-B99

Frassetto LA, Morris RC, Jr., Sebastian A (1996). Effect of age on blood acid-base composition in adult humans: role of age-related renal functional decline. *Am J Physiol* 271: F1114-F1122

Frassetto LA, Morris RC, Jr., Sebastian A (2007). Dietary sodium chloride intake independently predicts the degree of hyperchloremic metabolic acidosis in healthy humans consuming a net acid-producing diet. *Am J Physiol Renal Physiol* 293: F521-F525

Frassetto LA, Morris RC, Jr., Sellmeyer DE, Sebastian A (2008). Adverse effects of sodium chloride on bone in the aging human population resulting from habitual consumption of typical American diets. *J Nutr* 138: 419S-422S

Frassetto LA, Todd KM, Morris RC, Jr., Sebastian A (2000). Worldwide incidence of hip fracture in elderly women: relation to consumption of animal and vegetable foods. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 55: M585-M592

Frings-Meuthen, P. (2008). Einfluss einer hohen Kochsalzzufuhr auf die Natriumspeicherung, den Knochenstoffwechsel und den Säure-Basen Haushalt bei ambulanten sowie immobilisierten Probanden. Universität Bonn, Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften

Frings-Meuthen P, Baecker N, Heer M (2008d). Low-grade metabolic acidosis may be the cause of sodium chloride-induced exaggerated bone resorption. *J Bone Miner Res* 23: 517-524

Frings-Meuthen P, Baecker N, Heer M (2008a). Low-grade metabolic acidosis may be the cause of sodium chloride-induced exaggerated bone resorption. *J Bone Miner Res* 23: 517-524

Frings-Meuthen P, Baecker N, Heer M (2008b). Low-grade metabolic acidosis may be the cause of sodium chloride-induced exaggerated bone resorption. *J Bone Miner Res* 23: 517-524

Frings-Meuthen P, Baecker N, Heer M (2008c). Low-grade metabolic acidosis may be the cause of sodium chloride-induced exaggerated bone resorption. *J Bone Miner Res* 23: 517-524

Garibotto G, Russo R, Sofia A, Sala MR, Robaudo C, Moscatelli P, Deferrari G, Tizianello A (1994). Skeletal muscle protein synthesis and degradation in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 45: 1432-1439

Garrel DR, Moussali R, De OA, Lesiege D, Lariviere F (1995). RU 486 prevents the acute effects of cortisol on glucose and leucine metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 379-385

Gerzer R, Hemmersbach R, Horneck G (2006). *Life Sciences. Utilization of Space. Today and Tomorrow*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, pp 341-373

Gibson JN, Halliday D, Morrison WL, Stoward PJ, Hornsby GA, Watt PW, Murdoch G, Rennie MJ (1987). Decrease in human quadriceps muscle protein turnover consequent upon leg immobilization. *Clin Sci (Lond)* 72: 503-509

Gluck SL (1998). Acid-base. *Lancet* 352: 474-479

Goulding A, Campbell DR (1984). Effects of oral loads of sodium chloride on bone composition in growing rats consuming ample dietary calcium. *Miner Electrolyte Metab* 10: 58-62

Goulding A, Gold E (1986). Effects of dietary sodium chloride loading on parathyroid function, 1,25-dihydroxyvitamin D, calcium balance, and bone metabolism in female rats during chronic prednisolone administration. *Endocrinology* 119: 2148-2154

Goulding A, Gold E (1988). Effects of dietary NaCl supplementation on bone synthesis of hydroxyproline, urinary hydroxyproline excretion and bone ⁴⁵Ca uptake in the rat. *Horm Metab Res* 20: 743-745

Goulding A, McIntosh J (1986b). Effects of NaCl on calcium balance, parathyroid function and hydroxyproline excretion in prednisolone-treated rats consuming low calcium diet. *J Nutr* 116: 1037-1044

Goulding A, McIntosh J (1986a). Effects of NaCl on calcium balance, parathyroid function and hydroxyproline excretion in prednisolone-treated rats consuming low calcium diet. *J Nutr* 116: 1037-1044

Graham KA, Reaich D, Channon SM, Downie S, Gilmour E, Passlick-Deetjen J, Goodship TH (1996). Correction of acidosis in CAPD decreases whole body protein degradation. *Kidney Int* 49: 1396-1400

Graham KA, Reaich D, Channon SM, Downie S, Goodship TH (1997). Correction of acidosis in hemodialysis decreases whole-body protein degradation. *J Am Soc Nephrol* 8: 632-637

Grigoriev AI, Egorov AD (1991). The effects of prolonged spaceflights on the human body. *Adv Space Biol Med* 1: 1-35

Grigoriev AI, Egorov AD (1992). Physiological aspects of adaptation of main human body systems during and after spaceflights. *Adv Space Biol Med* 2: 43-82

Grimble GK, West MF, Acuti AB, Rees RG, Hunjan MK, Webster JD, Frost PG, Silk DB (1988). Assessment of an automated chemiluminescence nitrogen analyzer for routine use in clinical nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 12: 100-106

Guyton A.C., Hall J.E. (2000). The Adrenocortical Hormones. In: Guyton AC, Hall E.H. (eds) *Textbook of Medical Physiology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia,

Guyton AC, Hall JE (2000a). Regulation of Acid-Base Balance. In: Guyton AG, Hall JE (eds) *Textbook of Medical Physiology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp 346-363

Guyton AC, Hall JE (2000b). Regulation of Extracellular Fluid Osmolarity and Sodium Concentration. In: Guyton AC, Hall EH (eds) Textbook of Medical Physiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp 313-328

Hall JE, Brands MW (1992). The Renin-Angiotensin-Aldosterone Systems. In: Seldin DW, Giebisch G (eds) The Kidney. Raven Press, New York, pp 1455-1504

Heaney RP (2006). Role of dietary sodium in osteoporosis. *J Am Coll Nutr* 25: 271S-276S

Heer M, Boerger A, Kamps N, Mika C, Korr C, Drummer C (2000). Nutrient supply during recent European missions. *Pflugers Arch* 441: R8-14

Heer M, Frings-Meuthen P, Titze J, Boschmann M, Frisch S, Baecker N, Beck L (2009). Increasing sodium intake from a previous low or high intake affects water, electrolyte and acid-base balance differently. *Br J Nutr* 101: 1286-1294

Hogan MA, Wane D (2003). *Fluids, Electrolytes & Acid-Base Balance*. New Jersey

Horn F, Lindenmeier G, Moc I, Grillhösl S, Berghold S, Schneider N, Münster B (2003). *Biochemie des Menschen*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Hughey RP, Rankin BB, Curthoys NP (1980). Acute acidosis and renal arteriovenous differences of glutamine in normal and adrenalectomized rats. *Am J Physiol* 238: F199-F204

Inoue M, Tanaka H, Moriwake T, Oka M, Sekiguchi C, Seino Y (2000). Altered biochemical markers of bone turnover in humans during 120 days of bed rest. *Bone* 26: 281-286

Jackman RW, Kandarian SC (2004). The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *Am J Physiol Cell Physiol* 287: C834-C843

Jehle S, Zanetti A, Muser J, Hulter HN, Krapf R (2006). Partial neutralization of the acidogenic Western diet with potassium citrate increases bone mass in postmenopausal women with osteopenia. *J Am Soc Nephrol* 17: 3213-3222

JORGENSEN K (1957). Titrimetric determination of the net excretion of acid/base in urine. *Scand J Clin Lab Invest* 9: 287-291

Karim Z, Szutkowska M, Vernimmen C, Bichara M (2006). Recent concepts concerning the renal handling of $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$. *J Nephrol* 19 Suppl 9: S27-S32

Kinsella J, Cujdik T, Sacktor B (1984). Na^+-H^+ exchange in isolated renal brush-border membrane vesicles in response to metabolic acidosis. Kinetic effects. *J Biol Chem* 259: 13224-13227

Kiwull-Schone H, Kiwull P, Manz F, Kalhoff H (2008). Food composition and acid-base balance: alimentary alkali depletion and acid load in herbivores. *J Nutr* 138: 431S-434S

Kleger GR, Turgay M, Imoberdorf R, McNurlan MA, Garlick PJ, Ballmer PE (2001). Acute metabolic acidosis decreases muscle protein synthesis but not albumin synthesis in humans. *Am J Kidney Dis* 38: 1199-1207

Kluthe B (2001). PRODI - Ernährungs- und Diätberatungsprogramm. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH

Kolsen-Petersen JA, Nielsen JO, Tonnesen E (2005). Acid base and electrolyte changes after hypertonic saline (7.5%) infusion: a randomized controlled clinical trial. *Scand J Clin Lab Invest* 65: 13-22

Kreymann KG (2004). Sepsis. In: Hartig W, Biesalski HK, Druml W, Fürst P, Weimann A (eds) *Ernährungs- und Infusionstherapie: Standards für Klinik, Infusionstherapie und Ambulanz*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp 351-379

Külpmann WR, Stummvoll HK, Lehmann P (2002). *Klinik und Labor Elektrolyte, Säure-Basen und Blutgase*. Springer-Verlag, Wien New York

Kurtz I, Maher T, Hulter HN, Schambelan M, Sebastian A (1983). Effect of diet on plasma acid-base composition in normal humans. *Kidney Int* 24: 670-680

Lang T, LeBlanc A, Evans H, Lu Y, Genant H, Yu A (2004). Cortical and trabecular bone mineral loss from the spine and hip in long-duration spaceflight. *J Bone Miner Res* 19: 1006-1012

Lang T, Streeper T, Cawthon P, Baldwin K, Taaffe DR, Harris TB (2009). Sarcopenia: etiology, clinical consequences, intervention, and assessment. *Osteoporos Int*

Laron Z (2001). Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. *Mol Pathol* 54: 311-316

Lassiter WE (1990). Regulation of Sodium Chloride Distribution Within the Extracellular Space. In: Seldin DW, Giebisch G (eds) *The Regulation of Sodium and Chloride Balance*. Raven Press, New York, pp 23-58

Latres E, Amini AR, Amini AA, Griffiths J, Martin FJ, Wei Y, Lin HC, Yancopoulos GD, Glass DJ (2005). Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) inversely regulates atrophy-induced genes via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) pathway. *J Biol Chem* 280: 2737-2744

LeBlanc A, Rowe R, Schneider V, Evans H, Hedrick T (1995a). Regional muscle loss after short duration spaceflight. *Aviat Space Environ Med* 66: 1151-1154

LeBlanc A, Schneider V, Spector E, Evans H, Rowe R, Lane H, Demers L, Lipton A (1995b). Calcium absorption, endogenous excretion, and endocrine changes during and after long-term bed rest. *Bone* 16: 301S-304S

LEMANN J, Jr., Gray RW, Pleuss JA (1989). Potassium bicarbonate, but not sodium bicarbonate, reduces urinary calcium excretion and improves calcium balance in healthy men. *Kidney Int* 35: 688-695

Leonard JI, Leach CS, Rambaut PC (1983). Quantitation of tissue loss during prolonged space flight. *Am J Clin Nutr* 38: 667-679

Lewicka S, Nowicki M, Vecsei P (1998). Effect of sodium restriction on urinary excretion of cortisol and its metabolites in humans. *Steroids* 63: 401-405

Lim VS, Kopple JD (2000). Protein metabolism in patients with chronic renal failure: role of uremia and dialysis. *Kidney Int* 58: 1-10

Lindinger MI, Franklin TW, Lands LC, Pedersen PK, Welsh DG, Heigenhauser GJ (2000). NaHCO₃ and KHCO₃ ingestion rapidly increases renal electrolyte excretion in humans. *J Appl Physiol* 88: 540-550

Lofberg E, Gutierrez A, Anderstam B, Wernerman J, Bergstrom J, Price SR, Mitch WE, Alvestrand A (2006). Effect of bicarbonate on muscle protein in patients receiving hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 48: 419-429

Lueken SA, Arnaud SB, Taylor AK, Baylink DJ (1993). Changes in markers of bone formation and resorption in a bed rest model of weightlessness. *J Bone Miner Res* 8: 1433-1438

Luthy C, Moser C, Oetliker O (1977). [Acid-base determination of urine in 3 steps]. *Med Lab (Stuttg)* 30: 174-181

Lutz J (1984). Calcium balance and acid-base status of women as affected by increased protein intake and by sodium bicarbonate ingestion. *Am J Clin Nutr* 39: 281-288

Macdonald HM, New SA, Fraser WD, Campbell MK, Reid DM (2005). Low dietary potassium intakes and high dietary estimates of net endogenous acid production are associated with low bone mineral density in premenopausal women and increased markers of bone resorption in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 81: 923-933

Madias NE, Adroge HJ, Horowitz GL, Cohen JJ, Schwartz WB (1979). A redefinition of normal acid-base equilibrium in man: carbon dioxide tension as a key determinant of normal plasma bicarbonate concentration. *Kidney Int* 16: 612-618

Makoff DL, da Silva JA, Rosenbaum BJ, Levy SE, Maxwell MH (1970). Hypertonic expansion: acid-base and electrolyte changes. *Am J Physiol* 218: 1201-1207

Malley WJ (2005). *Clinical Blood Gases*. Elsevier Saunders, St. Louis

Malnic G (1988). Role of the kidney in controlling acid-base balance. *Child Nephrol Urol* 9: 241-252

Maniar S, Laouari D, Dechaux M, Motel V, Yvert JP, Mathian B, Kleinknecht C (1994). In vivo unaltered muscle protein synthesis in experimental chronic metabolic acidosis. *Kidney Int* 46: 1705-1712

Manz F, Remer T, Decher-Splithoff E, Hohler M, Kersting M, Kunz C, Lausen B (1995). Effects of a high protein intake on renal acid excretion in bodybuilders. *Z Ernahrungswiss* 34: 10-15

Maurer M, Riesen W, Muser J, Hulter HN, Krapf R (2003). Neutralization of Western diet inhibits bone resorption independently of K intake and reduces cortisol secretion in humans. *Am J Physiol Renal Physiol* 284: F32-F40

May RC, Bailey JL, Mitch WE, Masud T, England BK (1996). Glucocorticoids and acidosis stimulate protein and amino acid catabolism in vivo. *Kidney Int* 49: 679-683

May RC, Hara Y, Kelly RA, Block KP, Buse MG, Mitch WE (1987a). Branched-chain amino acid metabolism in rat muscle: abnormal regulation in acidosis. *Am J Physiol* 252: E712-E718

May RC, Kelly RA, Mitch WE (1986). Metabolic acidosis stimulates protein degradation in rat muscle by a glucocorticoid-dependent mechanism. *J Clin Invest* 77: 614-621

May RC, Kelly RA, Mitch WE (1987b). Mechanisms for defects in muscle protein metabolism in rats with chronic uremia. Influence of metabolic acidosis. *J Clin Invest* 79: 1099-1103

McCarty MF (2005). Acid-base balance may influence risk for insulin resistance syndrome by modulating cortisol output. *Med Hypotheses* 64: 380-384

McSherry E, Morris RC, Jr. (1978). Attainment and maintenance of normal stature with alkali therapy in infants and children with classic renal tubular acidosis. *J Clin Invest* 61: 509-527

Mehrotra R, Kopple JD, Wolfson M (2003). Metabolic acidosis in maintenance dialysis patients: clinical considerations. *Kidney Int Suppl* S13-S25

Meneton P, Jeunemaitre X, de Wardener HE, MacGregor GA (2005). Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases. *Physiol Rev* 85: 679-715

Miller LR, Waters JH (1997). Mechanism of hyperchloremic nonanion gap acidosis. *Anesthesiology* 87: 1009-1010

Millward DJ (1999). Protein - Synthesis and Turnover. In: Strain J.J., Caballero B. (eds) *Encyclopedia of human nutrition*. Academic press, San Diego, pp 1668-1675

Mitch WE, Medina R, Griebler S, May RC, England BK, Price SR, Bailey JL, Goldberg AL (1994). Metabolic acidosis stimulates muscle protein degradation by activating the adenosine triphosphate-dependent pathway involving ubiquitin and proteasomes. *J Clin Invest* 93: 2127-2133

Morlion BJ (1999). Wasser, Elektrolyte und Säure-Basen-Haushalt. In: Biesalski H.K. et al., Fürst P, Kasper H (eds) Ernährungsmedizin. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, pp 159-166

Movilli E, Zani R, Carli O, Sangalli L, Pola A, Camerini C, Cancarini GC, Scolari F, Feller P, Maiorca R (1998). Correction of metabolic acidosis increases serum albumin concentrations and decreases kinetically evaluated protein intake in haemodialysis patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 13: 1719-1722

Movilli E, Zani R, Carli O, Sangalli L, Pola A, Camerini C, Scolari F, Cancarini GC, Maiorca R (2001). Direct effect of the correction of acidosis on plasma parathyroid hormone concentrations, calcium and phosphate in hemodialysis patients: a prospective study. *Nephron* 87: 257-262

NASA (2010). Human Research Program. <http://humanresearch.jsc.nasa.gov/>

Nash MA, Torrado AD, Greifer I, Spitzer A, Edelmann CM, Jr. (1972). Renal tubular acidosis in infants and children. Clinical course, response to treatment, and prognosis. *J Pediatr* 80: 738-748

Need AG, Morris HA, Cleghorn DB, De ND, Horowitz M, Nordin BE (1991). Effect of salt restriction on urine hydroxyproline excretion in postmenopausal women. *Arch Intern Med* 151: 757-759

New SA, Macdonald HM, Campbell MK, Martin JC, Garton MJ, Robins SP, Reid DM (2004). Lower estimates of net endogenous non-carbonic acid production are positively associated with indexes of bone health in premenopausal and perimenopausal women. *Am J Clin Nutr* 79: 131-138

Noack R (1999). Energiehaushalt. In: Biesalski HK, Fürst P, Kasper H (eds) Ernährungsmedizin. Thieme-Verlag, Stuttgart, pp 28-39

Nordin BE, Need AG, Morris HA, Horowitz M (1993). The nature and significance of the relationship between urinary sodium and urinary calcium in women. *J Nutr* 123: 1615-1622

Oh MS (2000). New perspectives on acid-base balance. *Semin Dial* 13: 212-219

Orth DN (1995). Cushing's syndrome. *N Engl J Med* 332: 791-803

Papadoyannakis NJ, Stefanidis CJ, McGeown M (1984). The effect of the correction of metabolic acidosis on nitrogen and potassium balance of patients with chronic renal failure. *Am J Clin Nutr* 40: 623-627

Pavy-Le Traon A, Heer M, Narici MV, Rittweger J, Vernikos J (2007). From space to Earth: advances in human physiology from 20 years of bed rest studies (1986-2006). *Eur J Appl Physiol* 101: 143-194

Pizzorno J, Frassetto LA, Katzinger J (2010). Diet-induced acidosis: is it real and clinically relevant? *Br J Nutr* 103: 1185-1194

Price SR, England BK, Bailey JL, Van VK, Mitch WE (1994). Acidosis and glucocorticoids concomitantly increase ubiquitin and proteasome subunit mRNAs in rat muscle. *Am J Physiol* 267: C955-C960

Price SR, Reaich D, Marinovic AC, England BK, Bailey JL, Caban R, Mitch WE, Maroni BJ (1998). Mechanisms contributing to muscle-wasting in acute uremia: activation of amino acid catabolism. *J Am Soc Nephrol* 9: 439-443

Rajan V, Mitch WE (2008a). Ubiquitin, proteasomes and proteolytic mechanisms activated by kidney disease. *Biochim Biophys Acta* 1782: 795-799

Rajan VR, Mitch WE (2008b). Muscle wasting in chronic kidney disease: the role of the ubiquitin proteasome system and its clinical impact. *Pediatr Nephrol* 23: 527-535

Reaich D, Channon SM, Scrimgeour CM, Daley SE, Wilkinson R, Goodship TH (1993). Correction of acidosis in humans with CRF decreases protein degradation and amino acid oxidation. *Am J Physiol* 265: E230-E235

Reaich D, Channon SM, Scrimgeour CM, Goodship TH (1992). Ammonium chloride-induced acidosis increases protein breakdown and amino acid oxidation in humans. *Am J Physiol* 263: E735-E739

Rehm M, Finsterer U (2003). Treating intraoperative hyperchloremic acidosis with sodium bicarbonate or tris-hydroxymethyl aminomethane: a randomized prospective study. *Anesth Analg* 96: 1201-8, table

Remer T (2000). Influence of diet on acid-base balance. *Semin Dial* 13: 221-226

Remer T (2001). Influence of nutrition on acid-base balance--metabolic aspects. *Eur J Nutr* 40: 214-220

Remer T, Dimitriou T, Manz F (2003). Dietary potential renal acid load and renal net acid excretion in healthy, free-living children and adolescents. *Am J Clin Nutr* 77: 1255-1260

Remer T, Manz F (1994). Estimation of the renal net acid excretion by adults consuming diets containing variable amounts of protein. *Am J Clin Nutr* 59: 1356-1361

Remer T, Manz F (1995). Dietary protein as a modulator of the renal acid excretion capacity: Evidence that an increased protein intake improves the capability of the kidney to excrete ammonium. *Nutritional Biochemistry* 6: 431-437

Remer T, Maser-Gluth C (2007). Simultaneous measurements of urinary free cortisol and cortisone for the assessment of functional glucocorticoid activity. *Clin Chem* 53: 1870-1871

Remer T, Maser-Gluth C, Boye KR, Hartmann MF, Heinze E, Wudy SA (2006). Exaggerated adrenarche and altered cortisol metabolism in Type 1 diabetic children. *Steroids* 71: 591-598

Remer T, Pietrzik K, Manz F (1998). Short-term impact of a lactovegetarian diet on adrenocortical activity and adrenal androgens. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 2132-2137

Ruderman NB (1975). Muscle amino acid metabolism and gluconeogenesis. *Annu Rev Med* 26: 245-258

Sabboh H, Besson C, Tressol JC, Coudray C, Horcajada MN, Coxam V, Remesy C, Demigne C (2006). Organic potassium salts or fibers effects on mineral balance and digestive fermentations in rats adapted to an acidogenic diet. *Eur J Nutr* 45: 342-348

Sabboh H, Horcajada MN, Coxam V, Tressol JC, Besson C, Remesy C, Demigne C (2005). Effect of potassium salts in rats adapted to an acidogenic high-sulfur amino acid diet. *Br J Nutr* 94: 192-197

Santos F, Chan JC (1986). Renal tubular acidosis in children. Diagnosis, treatment and prognosis. *Am J Nephrol* 6: 289-295

Schakman O, Gilson H, de C, V, Lause P, Verniers J, Havaux X, Ketelslegers JM, Thissen JP (2005). Insulin-like growth factor-I gene transfer by electroporation prevents skeletal muscle atrophy in glucocorticoid-treated rats. *Endocrinology* 146: 1789-1797

Schakman O, Gilson H, Kalista S, Thissen JP (2009). Mechanisms of muscle atrophy induced by glucocorticoids. *Horm Res* 72 Suppl 1: 36-41

Scheid P (1999). Säure-Basen Gleichgewicht. In: Klinker R, Silbernagel S (eds) *Lehrbuch der Physiologie*. Thieme, Stuttgart, pp 273-286

Scheingraber S, Rehm M, Sehmisch C, Finsterer U (1999). Rapid saline infusion produces hyperchloremic acidosis in patients undergoing gynecologic surgery. *Anesthesiology* 90: 1265-1270

Scheld K, Zittermann A, Heer M, Herzog B, Mika C, Drummer C, Stehle P (2001). Nitrogen metabolism and bone metabolism markers in healthy adults during 16 weeks of bed rest. *Clin Chem* 47: 1688-1695

Schiffman SS (1997). Taste and smell losses in normal aging and disease. *JAMA* 278: 1357-1362

SCHONHEYDER F, HEILSKOV NS, OLESEN K (1954). Isotopic studies on the mechanism of negative nitrogen balance produced by immobilization. *Scand J Clin Lab Invest* 6: 178-188

Sebastian A, Frassetto LA, Sellmeyer DE, Merriam RL, Morris RC, Jr. (2002). Estimation of the net acid load of the diet of ancestral preagricultural *Homo sapiens* and their hominid ancestors. *Am J Clin Nutr* 76: 1308-1316

Sebastian A, Harris ST, Ottaway JH, Todd KM, Morris RC, Jr. (1994). Improved mineral balance and skeletal metabolism in postmenopausal women treated with potassium bicarbonate. *N Engl J Med* 330: 1776-1781

Seddon MR, Fettman MJ, Phillips RW (1994). Practical and clinical nutritional concerns during spaceflight. *Am J Clin Nutr* 60: 825S-830S

Sellmeyer DE, Stone KL, Sebastian A, Cummings SR (2001). A high ratio of dietary animal to vegetable protein increases the rate of bone loss and the risk of fracture in postmenopausal women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Am J Clin Nutr* 73: 118-122

Sharma AM, Cetto C, Schorr U, Spies KP, Distler A (1993). Renal acid-base excretion in normotensive salt-sensitive humans. *Hypertension* 22: 884-890

Sharma AM, Kribben A, Schattenfroh S, Cetto C, Distler A (1990). Salt sensitivity in humans is associated with abnormal acid-base regulation. *Hypertension* 16: 407-413

Short KR, Meek SE, Moller N, Ekberg K, Nair KS (1999). Whole body protein kinetics using Phe and Tyr tracers: an evaluation of the accuracy of approximated flux values. *Am J Physiol* 276: E1194-E1200

Silbernagel S (2001). Die Funktion der Nieren. In: Klinke R, Silbernagel S (eds) *Lehrbuch der Physiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp 287-336

Simmons PS, Miles JM, Gerich JE, Haymond MW (1984). Increased proteolysis. An effect of increases in plasma cortisol within the physiologic range. *J Clin Invest* 73: 412-420

Smith SM, Davis-Street J, Rice BL, Lane HW (1997). Nutrition in space. *Nutr Today* 32: 6-12

Smith SM, Nillen JL, LeBlanc A, Lipton A, Demers LM, Lane HW, Leach CS (1998). Collagen cross-link excretion during space flight and bed rest. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 3584-3591

Smith SM, Zwart SR (2008). Nutritional biochemistry of spaceflight. *Adv Clin Chem* 46: 87-130

Smith SM, Zwart SR, Kloeris V, Heer M (2009). *Nutritional Biochemistry of Spaceflight*.

Statistische Ämter des Bundes und der Länder (2008). *Demografischer Wandel in Deutschland*. Statistisches Bundesamt, Wiesbaden

StatSoft STATISTICA - Data analysis software system 7.1, 2005

Stein TP, Gajrindashvili T (1994). Spaceflight and protein metabolism, with special reference to humans. *Am J Clin Nutr* 60: 806S-819S

Stein TP, Leskiw MJ, Schluter MD (1993). Effect of spaceflight on human protein metabolism. *Am J Physiol* 264: E824-E828

Stein TP, Leskiw MJ, Schluter MD (1996). Diet and nitrogen metabolism during spaceflight on the shuttle. *J Appl Physiol* 81: 82-97

Stein TP, Leskiw MJ, Schluter MD, Donaldson MR, Larina I (1999). Protein kinetics during and after long-duration spaceflight on MIR. *Am J Physiol* 276: E1014-E1021

Stein TP, Schluter MD (1997). Human skeletal muscle protein breakdown during spaceflight. *Am J Physiol* 272: E688-E695

Stewart PA (1983). Modern quantitative acid-base chemistry. *Can J Physiol Pharmacol* 61: 1444-1461

Tannen RL (1983). Ammonia and acid-base homeostasis. *Med Clin North Am* 67: 781-798

Tesch PA, von WF, Gustafsson T, Linnehan RM, Trappe TA (2008). Skeletal muscle proteolysis in response to short-term unloading in humans. *J Appl Physiol* 105: 902-906

Tessari P, Inchiostro S, Biolo G, Trevisan R, Fantin G, Marescotti MC, Iori E, Tiengo A, Crepaldi G (1987). Differential effects of hyperinsulinemia and hyperaminoacidemia on leucine-carbon metabolism in vivo. Evidence for distinct mechanisms in regulation of net amino acid deposition. *J Clin Invest* 79: 1062-1069

Thompson GN, Pacy PJ, Merritt H, Ford GC, Read MA, Cheng KN, Halliday D (1989). Rapid measurement of whole body and forearm protein turnover using a [²H⁵]phenylalanine model. *Am J Physiol* 256: E631-E639

Tiao G, Hobler S, Wang JJ, Meyer TA, Luchette FA, Fischer JE, Hasselgren PO (1997). Sepsis is associated with increased mRNAs of the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 99: 163-168

Titze J, Shakibaei M, Schafflhuber M, Schulze-Tanzil G, Porst M, Schwind KH, Dietsch P, Hilgers KF (2004). Glycosaminoglycan polymerization may enable osmotically inactive Na⁺ storage in the skin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287: H203-H208

Tucker KL, Hannan MT, Kiel DP (2001). The acid-base hypothesis: diet and bone in the Framingham Osteoporosis Study. *Eur J Nutr* 40: 231-237

Vieth R, Bischoff-Ferrari H, Boucher BJ, Dawson-Hughes B, Garland CF, Heaney RP, Holick MF, Hollis BW, Lamberg-Allardt C, McGrath JJ, Norman AW, Scragg R, Whiting SJ, Willett WC, Zittermann A (2007). The urgent need to recommend an intake of vitamin D that is effective. *Am J Clin Nutr* 85: 649-650

Voigt K (1999). Endokrines System. In: Klinke R, Silbernagel S (eds) *Lehrbuch der Physiologie*. Thieme, Stuttgart, pp 443-492

Vormann J, Goedecke T (2006). Acid-Base Homeostasis: Latent Acidosis as a Cause of Chronic Disease. *Schweiz Zschr GanzheitsMedizin* 18: 255-266

Wackerhage H, Rennie MJ (2006). How nutrition and exercise maintain the human musculoskeletal mass. *J Anat* 208: 451-458

Wagenmakers AJ (1998). Protein and amino acid metabolism in human muscle. *Adv Exp Med Biol* 441: 307-319

Wagenmakers AJ (1999). Tracers to investigate protein and amino acid metabolism in human subjects. *Proc Nutr Soc* 58: 987-1000

Ward MW, Owens CW, Rennie MJ (1980). Nitrogen estimation in biological samples by use of chemiluminescence. *Clin Chem* 26: 1336-1339

Welbourne TC (1986). Effect of metabolic acidosis on hindquarter glutamine and alanine release. *Metabolism* 35: 614-618

Welbourne TC (1987). Interorgan glutamine flow in metabolic acidosis. *Am J Physiol* 253: F1069-F1076

Welle S (1998). *Human Protein Metabolism*. Springer, New York

Wernerman J, Botta D, Hammarqvist F, Thunell S, von der DA, Vinnars E (1989). Stress hormones given to healthy volunteers alter the concentration and configuration of ribosomes in skeletal muscle, reflecting changes in protein synthesis. *Clin Sci (Lond)* 77: 611-616

WHO and FAO (2003). *Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases*. WHO Library, Switzerland

Williams B, Hattersley J, Layward E, Walls J (1991a). Metabolic acidosis and skeletal muscle adaptation to low protein diets in chronic uremia. *Kidney Int* 40: 779-786

Williams B, Layward E, Walls J (1991b). Skeletal muscle degradation and nitrogen wasting in rats with chronic metabolic acidosis. *Clin Sci (Lond)* 80: 457-462

Wolfe RR (1992). *Radioactive and Stable Isotope Tracers in Biomedicine: Principles and Practice of Kinetic Analysis*. New York

Wynn, E. (2010). Alkaline mineral waters and acid base balance. Email

Wynn E, Krieg MA, Aeschlimann JM, Burckhardt P (2009a). Alkaline mineral water lowers bone resorption even in calcium sufficiency: alkaline mineral water and bone metabolism. *Bone* 44: 120-124

Wynn E, Raetz E, Burckhardt P (2009b). The composition of mineral waters sourced from Europe and North America in respect to bone health: composition of mineral water optimal for bone. *Br J Nutr* 101: 1195-1199

Zerwekh JE, Ruml LA, Gottschalk F, Pak CY (1998). The effects of twelve weeks of bed rest on bone histology, biochemical markers of bone turnover, and calcium homeostasis in eleven normal subjects. *J Bone Miner Res* 13: 1594-1601

8 Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei allen Personen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt und begleitet haben. Mein besonderer Dank gilt:

Frau PD Dr. Martina Heer für die Überlassung des Themas sowie die Möglichkeit, die Arbeit in ihrer Abteilung durchführen und die Ergebnisse auf internationalen Kongressen präsentieren zu dürfen. Sie hat mich zu jeder Zeit voll unterstützt und ich habe in zahlreichen wissenschaftlichen Diskussionen viel lernen dürfen.

Herrn Prof. Dr. Thomas Remer dafür, dass er sich viel Zeit für Gespräche genommen hat und mir mit Diskussionen über physiologische Zusammenhänge und seinen hilfreichen Ideen eine große wissenschaftliche Unterstützung war.

Herrn Prof. Dr. Peter Stehle für die Bereitschaft, ein drittes Gutachten anzufertigen.

Herrn Prof. Dr. Rupert Gerzer, an dessen Institut ich die wissenschaftlichen Untersuchungen durchführen und die Arbeit anfertigen durfte.

Frau Dr. Natalie Bäcker für die Betreuung meiner Arbeit. Ihre konstruktive Kritik und die ständige Bereitschaft mich zu unterstützen, waren mir eine große Hilfe.

Frau Dr. Petra Frings-Meuthen für die Durchführung der Salty Life 7-Studie, die organisatorische und wissenschaftliche Unterstützung bei der Durchführung der Salty Life 8-Studie sowie zahlreiche interessante Diskussionen, die wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Den Probanden beider Studien für ihre Kooperationsbereitschaft und ihr großes Engagement, die unerlässlich zur Durchführung der Untersuchungen waren. Ebenso danke ich dem Team der Abteilung Weltraumphysiologie und zahlreichen Studenten deren Einsatz erheblich zu einem erfolgreichen Abschluss der Studien beigetragen hat. Den Probanden und Mitarbeitern der Salty Life 8-Studie bin ich für eine sehr schöne Zeit dankbar!

Den Mitgliedern der Arbeitsgruppe „Ernährung und Knochenstoffwechsel“ dafür, dass ich mich bei ihnen immer wohl gefühlt habe und viel von ihnen lernen durfte.

Herrn Prof. Gianni Biolo und seinem Team für die wissenschaftliche Unterstützung in der Durchführung und Auswertung des Experiments zur Bestimmung der postabsorptiven Gesamtkörper-Proteinkinetik. Frau Dr. Francisca May für ihre außerordentliche Unterstützung bei der operationellen Durchführung des Experiments. Vielen Dank, dass ich auf Dich zählen konnte!

Herrn Henning Soll und Frau Yvonne Pecena sowie Herrn Götz Kluge und seinem Team für die hervorragende medizinische und psychologische Selektion der Versuchspersonen.

Frau Irmtrud Schrage, Frau Jette Hjorth-Müller, Frau Gaby Kraus, Frau Brigitte Nestler, Frau Monika Friedrichs, Herrn Jürgen Nolte, Frau Erika Blatzheim sowie dem Team von Frau Dr. Christiane Maser-Gluth und Herrn Prof. Gianni Biolo für die Unterstützung bei der analytischen Auswertung im Labor.

Herrn Dr. Rolf Fimmers für die Hilfe bei statistischen Fragestellungen.

Frau Anja Strupp für die orthographische und grammatikalische Überarbeitung der Arbeit.

Der Wernher von Braun Stiftung und dem Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt e.V. für die finanzielle Unterstützung.

Den Leuten, die mir eine unvergessliche Zeit im DLR bereitet haben. Mein ganz besonderer Dank gilt u.a. Arne, Britta, Irmi, Margot, Miesepeter, Raketenpeter, Petra, Simi und Vicky!

Meiner Familie, Torsten und meinen Freunden. Ohne Euch wäre es mir nicht möglich gewesen, die mentale Herausforderung dieser Arbeit immer wieder anzunehmen. Ich danke Euch von ganzem Herzen für Eure Unterstützung, Verständnis, Zuspruch und Ablenkung!