

Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften

Ernährungsphysiologie

**EINFLUSS EINER HOHEN KOCHSALZZUFUHR AUF DIE
NATRIUMSPEICHERUNG, DEN KNOCHENSTOFFWECHSEL UND DEN SÄURE-
BASEN HAUSHALT BEI AMBULANTEN SOWIE IMMOBILISIERTEN
PROBANDEN**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Ernährungs- und Haushaltswissenschaft
(Dr.oec.troph.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt am 08. April 2008

von

PETRA FRINGS-MEUTHEN

aus

Düren

Referent: Prof. Dr. Peter Stehle
Korreferenten: PD Dr. Martina Heer
Prof. Dr. Dr. Helga Sauerwein
Tag der mündlichen Prüfung: 20. August 2008
Erscheinungsjahr: 2009

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn
http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert.

Kurzzusammenfassung

Einfluss einer hohen Kochsalzzufuhr auf die Natriumspeicherung, den Knochenstoffwechsel und den Säure-Basen Haushalt bei ambulanten sowie immobilisierten Probanden

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Auswirkungen einer hohen Kochsalzzufuhr (NaCl-Zufuhr) auf die Form der Natriumspeicherung, den Säure-Basen Haushalt und auf den Knochenstoffwechsel. In diesem Zusammenhang stellen Astronauten eine vulnerable Gruppe dar und wurden daher besonders betrachtet. Zum einen haben sie eine hohe NaCl-Zufuhr, die vermutlich auf einen reduzierten Geschmackssinn im All zurückzuführen ist, und zum anderen weisen sie, aufgrund fehlender mechanischer Belastung (Immobilisation) im All, einen erhöhten Knochenabbau auf. In welcher Form Natrium auch, entgegen der gängigen Lehrbuchmeinung, ohne gleichzeitige Wassereinlagerung (osmotisch inaktiv), gespeichert werden kann und in welchem Zusammenhang der Säure-Basen Haushalt zu einem kochsalzinduzierten Knochenabbau steht, wurde anhand zweier stationärer Studien an 9 (Studie 1) bzw. 8 (Studie 2) gesunden, jungen, männlichen Probanden untersucht. Beide Studien von je 28 (Studie 1) bzw. 2 x 21 Tagen (Studie 2) fanden im Stoffwechsellabor des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt (DLR) statt.

In Studie 1 erhielten die Probanden in 4 aufeinanderfolgenden Phasen eine unterschiedliche diätetische Kochsalzzufuhr (Phase 1 und 4 mit jeweils 6 Tagen: 0,7 mmol NaCl/kgKG/Tag; Phase 2 mit 6 Tagen: 2,8 mmol NaCl/kgKG/Tag; Phase 3 mit 10 Tagen: 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag). In Studie 2 wurden die Probanden nach einer 4-tägigen Adaptationsphase für 14 Tage im 6° Kopftieflagemodell immobilisiert und erhielten im cross-over design eine hohe (7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag) und niedrige (0,7 mmol NaCl/kgKG/Tag) Kochsalzzufuhr. In beiden Studien wurde die Art der Natriumspeicherung durch die Erstellung täglicher metabolischer Bilanzen des Natrium-, Wasser- und Kaliumhaushaltes und durch Körpergewichtsveränderungen ermittelt. Der Einfluss auf den Knochenstoffwechsel wurde durch die Bestimmung von Knochenformations- (bAP, PINP, Osteocalcin) und Knochenresorptionsmarkern (CTX, NTX) bestimmt. Blutgasanalysen und pH Wert-Messungen im 24-h Urin gaben Aufschluss über gleichzeitige Veränderungen im Säure-Basen Haushalt.

Bei hoher NaCl-Zufuhr wurde eine Natriumspeicherung zwischen 290 ± 226 mmol (Studie 1) und 335 ± 266 mmol (Studie 2) beobachtet, die in Studie 1, anhand der betrachteten Kalium- und Wasserbilanz, als vorwiegend osmotisch inaktiv einzustufen war. Bei immobilisierten Probanden hingegen ging die Natriumspeicherung mit einer negativen Kaliumbilanz einher, was die Folge einer osmotisch neutralen Natriumspeicherung mit einem intrazellulären Kaliumaustausch darstellen könnte. In Bezug auf den Knochenstoffwechsel zeigten beide Studien bei hoher NaCl-Zufuhr sowohl einen signifikanten Anstieg der Calcium- als auch der CTX- bzw. NTX-Exkretion (in beiden Studien $p < 0,001$). Die Knochenformationsmarker blieben unverändert. Gleichzeitig war eine hohe NaCl-Zufuhr begleitet von einer milden metabolischen Azidose, die sich in einem sinkenden pH Wert (nur in Studie 1) und einer sinkenden Bikarbonat- und Base Excess-Konzentration innerhalb des Normbereichs äußerte. Schlussfolgernd bleibt festzuhalten:

1. Eine Natriumspeicherung bei hoher Kochsalzzufuhr von 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag erfolgt zum Teil ohne gleichzeitige Wassereinlagerung, die sich unter den gegebenen Studienbedingungen bei ambulanten Probanden als vorwiegend osmotisch inaktiv (Studie 1) und bei immobilisierten Probanden (Studie 2) als vorwiegend osmotisch neutral im Austausch mit Kalium äußerte.
2. Die Erzeugung einer milden metabolischen Azidose, als Folge einer hohen Kochsalzzufuhr, stellt einen potentiellen Mechanismus der kochsalzbedingten erhöhten Knochenresorption dar und eröffnet somit ein neues Feld an potentiellen Gegenmaßnahmen.
3. Eine Betrachtung individueller Reaktionen zeigt keinen offensichtlichen Zusammenhang zwischen einer Natriumspeicherung und einem kochsalzbedingten erhöhten Knochenabbau.

Abstract

Influence of a high salt intake on sodium retention, bone metabolism and acid-base balance in ambulatory and immobilised test subjects

The present work aimed to examine the effect of a high salt (sodium chloride, NaCl) intake on different forms of sodium retention, acid-base balance and bone metabolism. Because of the fact that astronauts are a vulnerable group in this context, they were of special interest. Astronauts have a high salt intake, probably because of a reduced sense of taste, as well as an increased bone resorption resulting from the lowered mechanical load in space. In which forms sodium could be retained even without fluid retention (osmotically inactive)- contrary to the argumentation of physiological text books - and if the acid-base balance is connected to sodium chloride induced bone loss was examined in two stationary studies with 9 (study 1) and 8 (study 2) healthy, young, male test subjects. The studies consisting of 28 (study 1) and 2 x 21 days (study 2) were carried out at the German Aerospace Center (DLR).

Test subjects of study 1 received consecutively 4 different dietary salt intake levels (phase 1 and 4 for a period of 6 days: 0.7 mmol NaCl/kgBW/d; phase 2 for a period of 6 days: 2.8 mmol NaCl/kgBW/d; phase 3 for a period of 10 days: 7.7 mmol NaCl/kgBW/d). In study 2, after an adaptation period of 4 days, test subjects were immobilised in 6° head-down tilt bed rest for 14 days during which they received a high (7.7 mmol NaCl/kgBW/d) and a low salt intake in cross-over design. The form of sodium retention was investigated by the calculation of daily metabolic sodium-, water- and potassium balances and by changes in body weight. The measurements of bone formation (bAP, PINP, Osteocalcin) markers as well as bone resorption markers (CTX, NTX) supplied insight into the influences of a high salt intake on bone metabolism. Blood gas analysis and pH values of 24-h urine were used to gather information about accompanying changes in the acid-base balance.

High sodium chloride intake led to sodium retention of 290 ± 226 mmol in study 1 and 335 ± 266 mmol in study 2. Respectively potassium- and water balances show that the retained sodium in study 1 was stored in an almost osmotically inactive form. However, in immobilised subjects sodium retention was accompanied by a negative potassium balance which could be due to an intracellular exchange for potassium and therefore almost osmotic neutral sodium retention. Concerning bone metabolism, sodium chloride intake led to a significant increase in calcium-, CTX- and NTX-excretion (both studies $p < 0.001$). Bone formation markers remained unaffected. High sodium chloride intake was accompanied by a low-grade metabolic acidosis characterised by a decreased blood pH value (only in study 1) as well as a decreased bicarbonate concentration and reduced base excess within the normal range. The results finally lead to the conclusion:

1. Sodium retention because of a high salt intake (7.7 mmol NaCl/kgBW/d) is partially stored even without fluid retention. Under ambulatory conditions sodium is stored mainly in an osmotically inactive form, whereas in immobilisation the storage appears to be mainly osmotically neutral through an exchange for potassium.
2. Low-grade metabolic acidosis may be the cause for sodium chloride induced increased bone resorption. This leads us to think about a new field of countermeasures.
3. Considering individual reactions there is no apparent connection between sodium retention and salt induced bone loss.

meinen Eltern

Abkürzungsverzeichnis

AMSAN	Arbeitsmedizinische Simulationsanlage
AVP	Arginin-Vasopressin
bAP	Knochenspezifische Alkalische Phosphatase, bone specific alkaline phosphatase
BE	Basenüberschuss, base excess
BMC	Knochenmineralgehalt, bone mineral content
BMD	Knochenmineraldichte, bone mineral density
BMI	Body Mass Index
BMR	Grundumsatz, basal metabolic rate
ca.	circa
Ca	Calcium
Cl	Chlorid
CO	Kohlenmonoxid
CTX	Carboxyterminales Kollagen-Typ-I-Telopeptid
d	Tag, day
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.
d.h.	das heißt
DLR	Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt e. V.
DOCA	Desoxycorticosteronacetat
DPD	Desoxypyridinolin
DXA	Dual energy X ray absorptiometry
EKG	Elektrokardiogramm
EZV	Extrazelluläres Volumen
FSKN	Frankfurter Selbstkonzeptskalen
GAG	Glycosaminoglykan

Hb	Hämoglobin
HDTBR	Kopftieflage, head-down-tilt bed rest
IE	Internationale Einheiten
IRMA	Immunoradiometrischer Assay
K	Kalium
kcal	Kilokalorien
KCl	Kaliumchlorid
KG	Körpergewicht
H	Wasserstoff
HCO_3^-	Bikarbonat
MW	Mittelwert
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NTX	Aminoterminales Kollagen-Typ-I-Telopeptid
Ocal	Osteocalcin
OH^-	Hydroxidion
OHP	Hydroxyprolin
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PAL	Aktivitätslevel, physical activity level
PCO_2	Partialdruck für Kohlendioxid
PINP	aminoterminales Propeptid des Typ 1 Prokollagens
PO_2	Partialdruck für Sauerstoff
PO_3^{4-}	Phosphat-Anion
PRAL	Potentielle renale Säureladung der Diät, potential renal acid load
PTH	Parathormon
SD	Standardabweichung

SGOT	Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
SGPT	Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase
UCa	Renale Calciumexkretion
WHO	Weltgesundheitsorganisation
γ GT	Gamma-Glutamyl-Transpettidase
z.B.	zum Beispiel

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammenfassung epidemiologischer Studien über den Effekt einer hohen Kochsalzzufuhr auf den Knochenstoffwechsel	9
Tabelle 2: Zusammenfassung von Interventionsstudien über den Effekt einer hohen Kochsalzzufuhr auf den Knochenstoffwechsel	10
Tabelle 3: Zusammenfassung von Studien über den Einfluss von Kochsalz auf den Knochenmineralgehalt (BMC) bzw. die Knochendichte (BMD)	11
Tabelle 4: Anthropometrische Daten	18
Tabelle 5: Klimatische Bedingungen	21
Tabelle 6: Blutabnahmezeitpunkte in Studie 1 und Studie 2	24
Tabelle 7A/B: Serumkonzentrationen (Natrium, Kalium, Chlorid, Aldosteron, Renin, AVP) in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr.	40
Tabelle 8 A/B: Natriumspeicherung der einzelnen Probanden bei hoher Kochsalzzufuhr.	45
Tabelle 9 A/B: Serumcalciumkonzentration, Serum-PTH-Konzentration, Knochenformationsmarker bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.	56
Tabelle 10 A/B: PO ₂ und PCO ₂ bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.	69

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Modell der 6° Kopftieflage zur Simulation von physiologischen Veränderungen in Schwerelosigkeit	14
Abbildung 2: Studiendesign Studie 1	19
Abbildung 3: Studiendesign Studie 2	19
Abbildung 4: Grundriss des metabolischen Labors (DLR, Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin)	20
Abbildung 5: Schlafrakt (Bild oben), Aufenthaltsraum (Bild unten links), metabolische Küche (Bild unten rechts)	21
Abbildung 6 A/B: Renale Natriumexkretion bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr. ...	43
Abbildung 7 A/B: Kumulative Natriumbilanz bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr. ...	46
Abbildung 8 A/B: Kumulative Kaliumbilanz bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.....	48
Abbildung 9: Renale Kaliumexkretion bei hoher und niedriger Kochsalzzufuhr.	49
Abbildung 10 A/B: Kumulative Wasserbilanz bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr. ...	51
Abbildung 11 A/B: Kumulative Körpergewichtsveränderungen bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.....	53
Abbildung 12 A/B: Renale Calciumexkretion bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr. ...	59
Abbildung 13 A/B: CTX bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.	61
Abbildung 14 A/B: NTX bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr	62
Abbildung 15 A/B: pH Wert im Blut bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.	64
Abbildung 16A/B: Bikarbonatkonzentration bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr. ...	66
Abbildung 17 A/B: Base Excess bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.....	68
Abbildung 18: pH Wert im 24-h Urin bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.....	71
Abbildung 19: Schema möglicher Mechanismen, die an der Entstehung einer kochsalzinduzierten gesteigerten Knochenresorption beteiligt sein können.....	82

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Thematische Einführung	3
2.1	Kochsalz und Natriumspeicherung.....	3
2.2	Einfluss einer hohen Kochsalzzufuhr auf den Calcium- und Knochenstoffwechsel.....	5
2.3	Einfluss von Kochsalz auf den Säure-Basen Haushalt	12
2.4	Kochsalz und Knochenstoffwechsel bei Astronauten.....	13
2.5	Fragestellungen der Arbeit.....	15
3	Material und Methoden.....	16
3.1	Versuchsdesign	16
3.1.1	Ethikkommission	16
3.1.2	Probandenauswahl	16
3.1.3	Studiendesign	18
3.1.4	Metabolisches Labor.....	20
3.1.5	Diät und Kochsalzzufuhr	22
3.1.6	Untersuchungsmethoden.....	24
3.2	Parameter des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes	26
3.2.1	Serumelektrolytkonzentrationen (Natrium, Kalium, Chlorid)	26
3.2.2	Aldosteron-, Renin-, und AVP- Konzentration im Serum	27
3.2.3	Natrium- und Kaliumausscheidung über Urin und Fäzes.....	27
3.2.4	Natrium-, Kalium- und Wasserbilanz.....	29
3.2.5	Körpergewicht.....	31
3.2.6	Plasmavolumen	31
3.3	Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels.....	32
3.3.1	Serumcalciumkonzentration.....	32

3.3.2	Serum-PTH-Konzentration.....	32
3.3.3	Knochenformationsmarker (bAP, Ocal, PINP)	33
3.3.4	Renale Calciumexkretion (UCa).....	34
3.3.5	Knochenresorptionsmarker (CTX, NTX)	34
3.4	Parameter des Säure-Basen Haushaltes	35
3.4.1	Parameter im Blut	35
3.4.2	pH Wert im 24-h Urin	36
3.4.3	Potentielle renale Säureladung der Diät	36
3.5	Statistik	37
4	Ergebnisse	39
4.1	Parameter des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes	39
4.1.1	Serumelektrolytkonzentrationen (Natrium, Kalium, Chlorid)	39
4.1.2	Aldosteron-, Renin- und AVP-Konzentration im Serum	40
4.1.3	Natriumausscheidung über Urin und Fäzes	42
4.1.4	Natriumbilanz.....	44
4.1.5	Kaliumbilanz.....	47
4.1.6	Wasserbilanz	49
4.1.7	Körpergewicht.....	52
4.2	Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels	54
4.2.1	Serumcalciumkonzentration.....	54
4.2.2	Serum-PTH-Konzentration.....	54
4.2.3	Knochenformationsmarker (PINP, bAP, Ocal)	55
4.2.4	Renale Calciumexkretion (UCa).....	57
4.2.5	Knochenresorptionsmarker (CTX, NTX)	60

4.3	Parameter des Säure-Basen Haushaltes	63
4.3.1	Parameter im Blut	63
4.3.2	pH Wert im 24-h Urin	70
5	Diskussion	72
6	Zusammenfassung	91
7	Literaturverzeichnis	94
8	Danksagung	113

1 Einleitung

Eine hohe Kochsalzzufuhr (chemisch: Natriumchlorid, NaCl), wie sie in den meisten Industrienationen vorkommt, übt einen Einfluss auf viele physiologische Systeme des Organismus aus. Obwohl eine hohe Natriumchloridzufuhr weitgehend durch eine Steigerung der renalen Natriumexkretion eliminiert werden kann, wird meist ein kleiner Anteil im Körper gespeichert. Laut Lehrbuchmeinung (Guyton und Hall 2000b) erfolgt diese Art der Speicherung osmotisch aktiv, d.h. mit einer gleichzeitigen Flüssigkeitsretention. In der Literatur gibt es jedoch Hinweise, dass Natrium auch ohne gleichzeitige Flüssigkeitsretention gespeichert werden kann. Im Stoffwechsellabor wurde dies bisher nur bei sehr hohen Kochsalzzufuhrmengen von > 400 mmol NaCl/Tag beobachtet (Heer et al. 2000a). Astronauten hingegen zeigen dies schon ab einer Zufuhr von 180 mmol NaCl/Tag (Drummer et al. 2000). Aufgrund der Aufrechterhaltung der Osmolalität der Flüssigkeitsräume muss dieses zusätzlich gespeicherte Natrium entweder osmotisch inaktiv eingelagert werden oder über den Austausch mit anderen Kationen der gleichen Ionenladung (wie z.B. Kalium) ausgetauscht werden. Durch die Erstellung täglicher metabolischer Natrium-, Wasser- und Kaliumbilanzen und durch Körpergewichtsveränderungen bei hoher Kochsalzzufuhr soll diese erste Fragestellung sowohl bei ambulanten (Studie 1) als auch bei immobilisierten Probanden in 14-tägiger Bettruhe mit 6° Kopftieflage (head-down-tilt bed rest, HDTBR), als Modell für physiologische Veränderungen in Schwerelosigkeit (Studie 2), untersucht werden.

Eine zweite Fragestellung ergibt sich aus dem calciuretischen Effekt von Natrium, der Kochsalz zu einem möglichen Risikofaktor für die weit verbreitete Knochenkrankung Osteoporose macht (Heaney 2006; Massey und Whiting 1996). Trotz einer großen Anzahl wissenschaftlicher Studien in diesem Forschungsbereich, sind der Effekt und der Mechanismus, der zur Mobilisation von Calcium aus dem Skelettsystem bei hoher Kochsalzzufuhr führt, noch weitgehend unklar. Eine Aktivierung des Parathormons (PTH) bei steigender renaler Calciumausscheidung und eine demzufolge sinkende Serumcalciumkonzentration konnte bisher nicht bestätigt werden (Chan et al. 1992; Evans et al. 1997). Es ist daher sinnvoll andere physiologische Systeme zu betrachten, die in diesem Zusammenhang eine Rolle

spielen könnten. In dieser Arbeit steht dabei der Säure-Basen Haushalt im Vordergrund, der durch eine Kochsalzbedingte metabolische Azidose eine erhöhte Knochenresorption verursachen könnte (Arnett 2003). Dies soll anhand einer zweiten Fragestellung an ambulanten Probanden (Studie 1) mit unterschiedlicher diätetischer Kochsalzzufuhr untersucht werden.

Astronauten stellen aufgrund der fehlenden Schwerkraft eine Risikogruppe für Knochenerkrankungen dar. Gleichzeitig zeigen Nährstoffauswertungen verschiedener Weltraummissionen, dass Astronauten - vermutlich aufgrund einer Verschlechterung des Geschmackssinns im All - eine sehr hohe Menge Kochsalz aufnehmen (Heer et al. 2000b). Eine dritte Fragestellung mit Hilfe des Simulationsmodells der 6° Kopftieflage in Studie 2 soll daher Aufschluss darüber geben, ob eine hohe Kochsalzzufuhr einen durch Immobilisation bedingten Knochenabbau noch verstärken kann.

Inwiefern die Art der Natriumspeicherung ebenfalls einen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel und/oder den Säure-Basen Haushalt ausüben kann, soll abschließend diskutiert werden.

2 Thematische Einführung

2.1 Kochsalz und Natriumspeicherung

Kochsalz ist das Natriumsalz der Salzsäure und setzt sich aus Natrium-Kationen (Na^+) und Chlorid-Anionen (Cl^-) zusammen; die chemische Formel lautet NaCl . Die Gewichtsanteile von Natrium und Chlorid sind aufgrund der unterschiedlichen Atomgewichte (1 mol Na = 23 g und 1 mol Cl = 35,5 g) ungleich verteilt. 1 g Kochsalz besteht daher aus 0,4 g Natrium und 0,6 g Chlorid (DGE 2000). Die Ionen Natrium und Chlorid dienen dem Körper zur Aufrechterhaltung des Volumens der extrazellulären Flüssigkeit und der Serum Osmolalität. Veränderungen in der Plasmanatriumkonzentration können einen direkten Einfluss auf den osmotischen Druck des Plasmas, das Plasmavolumen, den Säure-Basen Haushalt, die Aufrechterhaltung der elektrischen Aktivität der Zellen und auf das kardiovaskuläre System haben (Grollmann 1961; Guyton and Hall 2000b). Verschiedene menschliche Populationen sind im Stande mit sehr unterschiedlichen Natrium-Extremen zurechtzukommen. So haben Brasilianische Yanomamo Indianer eine durchschnittliche Natriumzufuhr von nur 20 mmol pro Tag, während in Nord-Japan Zufuhren von bis zu 600 mmol pro Tag vorkommen können (Food and Nutrition Board Institute of Medicine 2004). Die Fähigkeit mit einer sehr niedrigen Natriumzufuhr zu überleben liegt darin begründet, dass der Körper den Verlust von Natrium über die Niere und über die Haut reduzieren kann. Bei sehr hohen Natrium-Zufuhren kann die Niere sehr schnell große Mengen an Natrium ausscheiden. (Oberleithner 2003; Silbernagl 2003).

Nach den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) wird die minimale tägliche Natriumzufuhr auf 24 mmol (550 mg) geschätzt; diese Menge entspricht einer täglichen Kochsalzzufuhr von ca. 1,4 g. Eine Kochsalzzufuhr von 6 g pro Tag (entsprechend 2,4 g Natrium) wird unter den hiesigen Lebensbedingungen als angemessene Zufuhr betrachtet und sollte nicht überschritten werden (DGE 2000). In den meisten industrialisierten Gesellschaften liegt die durchschnittliche Natriumzufuhr jedoch mit 150 bis 200 mmol (ca. 8,6 - 11,5 g NaCl) höher (Franco und Oparil 2006). Laut Ernährungsbericht 2004 (DGE 2004) liegt die tägliche

Natriumaufnahme in Deutschland zwischen 95,7 und 200 mmol (ca. 5,5 - 11,5 g NaCl/Tag), durchschnittlich bei 130 mmol. Bei der Bewertung der Angaben muss berücksichtigt werden, dass es sehr schwierig ist, zuverlässige Informationen über die durchschnittliche Natrium- bzw. Kochsalzzufuhr zu gewinnen. Verschiedene Autoren weisen auf die Unsicherheiten hin, die unter anderem auf unzuverlässige Angaben bei Verzehrserhebungen aber auch auf große Unterschiede des Kochsalzgehaltes bei verarbeiteten Lebensmitteln zurückzuführen sind (Berkemeyer und Remer 2006; Fregly 1981; Siani et al. 2000). Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass die tatsächliche Kochsalzzufuhr deutlich höher liegt. Kochsalz ist ein Lebensmittelzusatz und wichtig sowohl zur Haltbarmachung der Lebensmittel als auch als geschmackliche Komponente. Frassetto et al. (Frassetto et al. 2001) berichten, dass es in der modernen westlichen Ernährung zu einem Natriumkonsum von 100-300 mmol pro Tag kommt. Sie stellten fest, dass es im Laufe der Evolution zu einem Wechsel des Natrium-Kalium-Verhältnisses in der Nahrung von 1:10 zu 3:1 gekommen ist. Da Natrium mit Lebensmitteln hauptsächlich in der Form von Natriumchlorid und Kalium hauptsächlich in der Form von Bikarbonat generierenden organischen Säuren aufgenommen wird, hat sich auch das Verhältnis von Chlorid zu Bikarbonat entsprechend geändert. Als metabolische Konsequenz scheint der Körper nicht nur mit Natrium und Chlorid überlastet zu sein, sondern es herrscht gleichzeitig ein Mangel an Kalium und Bikarbonat.

Ein Salzüberschuss hat im Körper eine erhöhte Plasmaosmolalität zur Folge. Dies führt entsprechend der gängigen Lehrbuchmeinung zu einer Wasserretention, einem erhöhten Plasmavolumen und einem gesteigerten extrazellulärem Volumen (EZV), um die Funktion der Körperzellen aufgrund der sonst entstehenden erhöhten Osmolalität nicht zu beeinträchtigen (Deetjen 1994). Das in der extrazellulären Flüssigkeit befindliche Natrium verhält sich demnach osmotisch aktiv. Die nachfolgende Suppression des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Mechanismus, welcher für die hormonelle Kontrolle des Natriumhaushaltes von entscheidender Bedeutung ist, bewirkt eine vermehrte Natrium- und Wasserausscheidung über die Nieren, so dass sich das EZV wieder normalisiert (Silbernagl und Despopoulos 2000). Tägliche Natriumbilanzen in Tier- und Humanstudien zeigten jedoch bei hoher

Natriumzufuhr - entgegen der gängigen Lehrbuchmeinung - eine Natriumeinlagerung ohne gleichzeitige Flüssigkeitsretention (Drummer et al. 2001; Heer et al. 2000a; Kirkendall et al. 1976; McKnight et al. 1994; Sagnella et al. 1989; Titze et al. 2002a). In einem 15-tägigen Weltraumexperiment während der MIR '97 Mission wurde gezeigt, dass Astronauten in diesem Zeitraum 750 mmol Natrium ohne zusätzliche Flüssigkeitsretention einlagerten (Drummer et al. 2001). Ähnliche Ergebnisse wurden auch in anschließenden Laborversuchen mit sehr hoher Kochsalzzufuhr ermittelt (Heer et al. 2000a). Tierexperimente von Seeliger et al. (Seeliger et al. 2005) zeigten, dass eine hohe Natriumchloridzufuhr bei Hunden bei gleichzeitiger Stimulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems eine vermehrte Kaliumausscheidung zur Folge hatte, was auf einen möglichen intra-/extrazellulären Natrium-Kalium Austausch ohne gleichzeitige Wassereinlagerung hindeutet.

2.2 Einfluss einer hohen Kochsalzzufuhr auf den Calcium- und Knochenstoffwechsel

In Bezug auf die Entstehung von Krankheiten wird eine hohe Kochsalzzufuhr primär in Verbindung mit Bluthochdruck gebracht. (Blackwood et al. 2001; Meneton et al. 2005). Eine hohe Kochsalzzufuhr beeinflusst jedoch auch den Calciumstoffwechsel und wird somit auch als ein möglicher Risikofaktor für die Entstehung einer Osteoporose angesehen. Die Osteoporose ist die häufigste der generalisierten, metabolischen Skeletterkrankungen. Sie wird definiert als eine „systemische Skeletterkrankung mit einer Verminderung der Knochenmasse und einer Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochengewebes mit entsprechend reduzierter Festigkeit und erhöhter Frakturneigung“ (NIH Consensus Statement 1993) und stellt ein ernstes öffentliches Gesundheitsthema dar. Derzeit gilt die Definition gemäß der Weltgesundheitsorganisation (WHO), die die Osteoporose der Frau nach den Werten der Knochendichtemessung festlegt. Damit liegt eine Osteoporose dann vor, wenn die durch DXA (Dual energy X ray absorptiometry) gemessene Knochendichte im Bereich der Lendenwirbelsäule um mehr als 2,5 Standardabweichungen (SD) unter dem Mittelwert eines jungen gesunden

Normalkollektivs liegt (T-Score). Befindet sich der Messwert zwischen 1 und 2,5 SD, so spricht man von einer Osteopenie (Kanis und WHO Group 1994).

Als ein möglicher Grund für die Entwicklung einer Osteoporose aufgrund eines zu hohen Kochsalzkonsums wird die Verbindung zwischen der renalen Natrium- und Calciumexkretion angesehen. Es gilt mittlerweile als erwiesen, dass die tägliche Natriumzufuhr in Form von Kochsalz eine wichtige Determinante der renalen Calciumexkretion darstellt (Nordin et al. 1993). Die Abhängigkeit der Calciumexkretion von der Natriumexkretion wird der Existenz eines gemeinsamen Mechanismus der tubulären Reabsorption im proximalen Tubulus und in der Henleschen Schleife zugeschrieben (McCarron et al. 1981; Need et al. 1991).

Die Niere spielt eine entscheidende Rolle in der Aufrechterhaltung der Calcium- und Natrium-Homöostase; 99% der Na^+ -Ionen und 95% der Ca^{2+} -Ionen werden in der Niere reabsorbiert. 60-70% der Ca^{2+} -Ionen werden entlang des proximalen Tubulus mittels passiver Reabsorption in Abhängigkeit von der gleichzeitig absorbierten Natriummenge reabsorbiert. Auch in der Henleschen Schleife wird Ca^{2+} auf diese Weise reabsorbiert. In den distalen Segmenten des Tubulussystems verläuft die Reabsorption aktiv, unterliegt der hormonellen Kontrolle des Parathormons (PTH), des Calcitonins und des 1,25-Dihydroxycholecalciferols ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) und verläuft entgegengesetzt zur Natriumreabsorption. Die Reabsorption von Calcium in den distalen Segmenten ist streng reguliert und entscheidend zur Aufrechterhaltung der Calcium-Homöostase. Natriumabhängige Veränderungen des Calciumtransportes in der Niere sind indirekt und treten sekundär aufgrund elektrischer Potenziale an den Membranen auf (Friedman 1998; Friedman 2000).

In der Literatur gibt es viele Studien, die den Zusammenhang zwischen der renalen Natrium- und Calciumexkretion bestätigen. Wissenschaftler unterstützen die Auffassung, eine hohe Kochsalzzufuhr in die Liste der Faktoren aufzunehmen, die eine sekundäre Hypercalciurie verursachen können (Audran und Legrand 2000; Cirillo et al. 1997). Die klassischen Untersuchungen gehen auf Alisa Goulding und Mitarbeiter in den 80er Jahren an Ratten zurück. Goulding et al. (Goulding und Campbell 1983; Goulding und Campbell 1984; Goulding und Gold 1988; Goulding und McIntosh 1986) untersuchten sowohl bei jungen als auch bei ausgewachsenen

Ratten den Einfluss einer NaCl-Supplementation von 80g/kg Nahrung auf den Calciumstoffwechsel und stellten fest, dass die NaCl-Supplementation zu einer signifikanten Erhöhung der renalen Calciumexkretion führte. Mittlerweile haben sehr viele epidemiologische Studien (Chan et al. 1992; Dawson-Hughes et al. 1996; Goulding 1981; Itoh und Suyama 1996; Jones et al. 1997; Law et al. 1988; Matkovic et al. 1995; Shortt et al. 1988) und auch Interventionsstudien (Breslau et al. 1985; Castenmiller et al. 1985; Chan et al. 1992; Evans et al. 1997; Harrington et al. 2004a; Harrington et al. 2004b; Massey 2005; McParland et al. 1989; Zarkadas et al. 1989) diesen Zusammenhang ebenfalls beim Menschen bestätigt. Sie stellten positive Korrelationen und auch direkte Effekte der Natriumzufuhr und/oder der 24-h Natriumexkretion auf die 24-h Calciumexkretion fest. Dabei tritt der Effekt einer Natrium induzierten Calciurie unabhängig von Geschlecht und Alter auf (Blackwood et al. 2001; Chan et al. 1992; Goulding 1981; Heaney 2006; Itoh and Suyama 1996; Matkovic et al. 1995; Nordin et al. 1993).

Zusammengefasst besagen die verfügbaren Studien, dass die renale Calciumexkretion pro 100 mmol Steigerung der Natriumzufuhr um 0,5 - 1,5 mmol steigt (Heaney 2006). Als direkte Folge einer erhöhten renalen Calciumexkretion wird eine kurzfristig erniedrigte Serumcalciumkonzentration angesehen, welche einen Anstieg der Sekretion des Parathormons (PTH) bewirkt (Heaney 2006). PTH hat 3 Zielorgane: Knochen, Darm und Niere. Im Knochen werden die knochenabbauenden Zellen, die Osteoklasten, indirekt aktiviert und es kommt zu einer Mobilisation von Calcium (und Phosphat) aus dem Skelett. Im Darm wird die Calciumabsorption indirekt dadurch gesteigert, dass PTH die Synthese von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, dem aktiven Metaboliten von Vitamin D₃, erhöht. Durch eine erhöhte Calciumreabsorption im distalen Tubulus trägt die Nierenwirkung zu einem wieder ansteigenden Plasmacalciumspiegel bei (Deetjen und Speckmann 1994; Hodsmann et al. 2002; Potts 2005). Eine langfristige erfolgreiche Adaptation an eine hohe Salzzufuhr ohne Beeinträchtigung des Skelettssystems verlangt daher eine erhöhte intestinale Calciumabsorption. Wenn ein erhöhter renaler Calciumverlust nicht durch eine gesteigerte Calciumabsorption ausgeglichen werden könnte, wäre ein nicht kompensierter Calciumverlust von 1mmol/Tag groß genug, um jährlich 1% des

Skeletts aufzulösen (Goulding 1990). Eine erhöhte Calciumabsorption wurde jedoch nur in sehr wenigen Studien nachgewiesen (Breslau et al. 1982; Meyer et al. 1976). Breslau et al. (Breslau et al. 1982) fanden bei 11 Personen im Alter von 22-36 Jahren eine erhöhte Calciumabsorption nach einer 10-tägigen Supplementation von 240 mmol Natrium/Tag. Im Gegensatz dazu konnten sie in einer anderen Untersuchung bei postmenopausalen Frauen mit Osteoporose, trotz einer NaCl-induzierten, Calciurie keine erhöhten $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Spiegel feststellen (Breslau et al. 1985). Ähnliche Ergebnisse erzielten sie auch bei der Messung des PTH-Spiegels, der wiederum nur bei jungen Personen erhöht war. Es scheint, als würde es mit zunehmendem Alter zu einem Verlust der adaptiven Mechanismen kommen, welche den Natrium-induzierten renalen Calciumverlust kompensieren könnte. Jedoch verzeichneten Evans et al. (Evans et al. 1997) nach einer Gabe von 300 mmol Natrium/Tag weder bei prä- noch bei postmenopausalen Frauen einen Anstieg von PTH. Auch andere Investigatoren konnten bei steigender Natriumzufuhr (Chan et al. 1992) keine erhöhte PTH-Synthese (oder Aktivität) feststellen. Die Diskrepanz zwischen den Untersuchungen kann mit den derzeit zur Verfügung stehenden Studien nicht aufgelöst werden. Obwohl der PTH-Effekt plausibel erscheint, sind andere zusätzliche Mechanismen, die durch eine erhöhte Kochsalzzufuhr ausgelöst werden können, vorstellbar. Denn auch Studien, die keinen PTH-Effekt nachweisen konnten, fanden dennoch einen Anstieg der Knochenresorption bei erhöhter Kochsalzzufuhr (Evans et al. 1997; Harrington et al. 2004a; Harrington et al. 2004b; Weisinger 1996).

Inwieweit eine Natrium-induzierte gesteigerte renale Calciumausscheidung einen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel hat, wurde in einer Reihe von Studien anhand der Bestimmung von Biomarkern des Knochenstoffwechsels untersucht. Die Messung der Biomarker des Knochenstoffwechsels stellt eine nicht invasive Methode dar, um die zellulären Aktivitäten des Knochens abzuschätzen. Serum- und Urinkonzentrationen dieser Marker zeigen eine gute Korrelation mit dem Knochenumbau (Eriksen et al. 1995). Man unterscheidet zwischen Knochenformations- und Knochenresorptionsmarkern, die entweder eine zellulär enzymatische Aktivität widerspiegeln oder Bestandteile der Knochenmatrix sind, die beim Auf- oder Abbau

von Knochensubstanz in die Zirkulation freigesetzt werden (Seibel und Woitge 1999). Sowohl epidemiologische (siehe Tabelle 1) als auch Interventionsstudien (siehe Tabelle 2) zeigen kontroverse Ergebnisse. Da postmenopausale Frauen die größte Risikogruppe für die Entwicklung einer Osteoporose darstellen, wurden die meisten Studien mit diesem Probandenkollektiv durchgeführt. Nach Betrachtung der bisher publizierten Studien konnte man einen nahezu konstanten Effekt nur bei postmenopausalen Frauen feststellen, die bei hoher Kochsalzzufuhr mit einem 19-27%igen Anstieg der Knochenabbaumarker reagierten. Als möglicher Grund wird eine mangelnde Adaptation des Körpers an die gesteigerte Calciumausscheidung bei fortschreitendem Alter angesehen.

Tabelle 1: Zusammenfassung epidemiologischer Studien über den Effekt einer hohen Kochsalzzufuhr auf den Knochenstoffwechsel

Autor, Jahr	Studien-dauer	Probanden	Biomarker	Ergebnisse
Nakamura et al. 2004	3 Tage Erfassung der Ernährung	43 postmenopausale Frauen (Ø 68,3 Jahre)	DPD, NTX, bAP, Ocal	Keine Korrelation zwischen Na-Zufuhr und Knochenmarkern
Itoh et al. 1999	„Moment-erfassung“	342 Männer 421 Frauen (20-79 Jahre)	DPD	nur in der Altersgruppe 50-79 positive Korrelation von Na- und DPD-Exkretion
Jones et al. 1997	„Moment-erfassung“	34 Männer 120 Frauen (20-70 Jahre)	DPD	Positive Korrelation zwischen Na- und DPD-Exkretion
Itoh and Suyama 1996	„Moment-erfassung“	410 Männer 476 Frauen (20-79 Jahre)	OHP	Positive Korrelation zwischen der Na- und OHP-Exkretion in allen Altersgruppen und bei beiden Geschlechtern
Chan et al. 1992	„Moment-erfassung“	334 Frauen (17-40 Jahre)	OHP	Leicht positive Korrelation zwischen der Na- und OHP-Exkretion
Goulding 1981	„Moment-erfassung“	580 Frauen (16-82 Jahre)	OHP	Positive Korrelation zwischen Na- und OHP-Exkretion, keine Korrelation bei 16-19 Jährigen

Knochenabbaumarker: Desoxypyridinolin (DPD), aminoterminales Kollagen-Typ-I-Telopeptid (NTX), Hydroxyprolin (OHP)

Knochenaufbaumarker: knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP), Osteocalcin (Ocal)

Tabelle 2: Zusammenfassung von Interventionsstudien über den Effekt einer hohen Kochsalzzufuhr auf den Knochenstoffwechsel

Autor, Jahr	Dauer der Intervention	Probanden (Alter)	NaCl-Zufuhr in mmol/Tag	Biomarker	Veränderungen von niedriger zu hoher NaCl-Zufuhr
Massey 2005	7 Tage	10 postmenopausale Frauen (46-74 Jahre)	50:200	DPD, NTX bAP, Ocal	Ocal sinkt NTX, DPD nur abends höher
Harrington et al. 2004b	28 Tage	24 postmenopausale Frauen (50-67 Jahre)	65:180	NTX bAP, Ocal	NTX-Anstieg um 19% Ocal, bAP keine Veränderung
Harrington et al. 2004a	28 Tage	18 postmenopausale Frauen mit und ohne Hormonersatztherapie	65:180	NTX bAP, Ocal	NTX-Anstieg nur bei Probanden ohne Hormonersatztherapie bAP, Ocal keine Veränderung
Lin et al. 2003	30 Tage	186 Erwachsene (23-76 Jahre)	50:100:150	CTX Ocal	CTX, Ocal keine Veränderung
Sellmeyer et al. 2002	28 Tage	26 postmenopausale Frauen (Ø 63,8 Jahre)	87:225	NTX Ocal	NTX-Anstieg um 23%, Ocal-Abfall um 5%
Ginty et al. 1998	14 Tage	8 Na-sensitive Frauen 8 Nicht-Na-sensitive Frauen (Ø 24,5 Jahre)	80:180	PYD, DPD bAP, Ocal	Keine Veränderungen
Evans et al. 1997	14 Tage	11 premenopausale Frauen (22-47 Jahre) 11 postmenopausale Frauen (45-70 Jahre)	50:300	DPD Ocal	DPD Anstieg um 27% nur bei postmenopausalen Frauen, Ocal Abfall um 8% nur bei premenopausalen Frauen
Lietz et al. 1997	8 Tage	14 postmenopausale Frauen (50-70 Jahre)	60:170	PYD, DPD	Keine Veränderungen
McParland et al. 1989	10 Tage	10 postmenopausale Frauen (Ø 66,8 Jahre)	70:170	OHP Ocal	OHP Anstieg, Ocal leichter Anstieg

Knochenabbaumarke: Desoxypyridinolin (DPD), Pyridinolin (PYD), aminoterminales Kollagen-Typ-I-Telozeptid (NTX), carboxyterminales Kollagen-Typ-I-Telozeptid (CTX), Hydroxyprolin (OHP)
Knochenaufbaumarke: knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP), Osteocalcin (Ocal)

Da die Biomarker des Knochenstoffwechsels nur eine Momentaufnahme des Knochenstoffwechsels darstellen und nichts über einen quantitativen oder qualitativen Knochenauf- bzw. -abbau aussagen, gibt es Studien, die den Einfluss von Kochsalz über einen längeren Zeitraum auf den Knochenmineralgehalt (bone mineral content = BMC) und die Knochendichte (bone mineral density = BMD) untersucht haben (Carbone et al. 2003; Devine et al. 1995; Greendale et al. 1994; Jones et al. 2001; Martini et al. 2000; Matkovic et al. 1995). Auch diese Studien liefern keine einheitlichen Ergebnisse (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Zusammenfassung von Studien über den Einfluss von Kochsalz auf den Knochenmineralgehalt (BMC) bzw. die Knochendichte (BMD)

Autor, Jahr	Studien- dauer	Probanden	Mess- parameter	Ergebnisse
Carbone et al. 2003	„Moment- erfassung“	89 postmeno- pausale Frauen (55-85 Jahre)	BMD an Hüfte	Keine Korrelation zwischen Na- Exkretion und der BMD
Jones et al. 2001	„Moment- erfassung“	330 Jungen & Mädchen (Ø 8 Jahre)	BMC, BMD an Lendenwirbel- säule, Oberschenkel- hals	Keine Korrelation zwischen Na- Exkretion und der BMD bzw. des BMC
Devine et al. 1995	2 Jahre	124 postmeno- pausale Frauen	BMD an Wirbelsäule, Schien-, Wadenbein, Hüfte	Negative Korrelation zwischen der Ø Na-Exkretion und der BMD an der Hüfte
Matkovic et al. 1995	„Moment- erfassung“	381 Mädchen (8-13 Jahre)	BMC, BMD am Vorderarm	Keine Korrelation zwischen Na- Exkretion und der BMD bzw. BMC
Greendale et al. 1994	16 Jahre	258 Frauen (Ø 73,3 Jahre) 169 Männer (Ø 72,4 Jahre)	BMD an Hüfte und Wirbelsäule	Positive Korrelation zwischen der Na-Zufuhr und der BMD an der Hüfte, Wegfall der Signifikanz unter Berücksichtigung von Kofaktoren

2.3 Einfluss von Kochsalz auf den Säure-Basen Haushalt

Nach Betrachtung der bisher publizierten Literatur lässt sich feststellen, dass der physiologische Mechanismus, der bei hoher Kochsalzzufuhr zu einer Mobilisierung von Calcium aus dem Skelett führt, noch nicht ganz verstanden ist (Bell et al. 1992; Goulding 1981; MacGregor und Cappuccio 1993; McCarron et al. 1981). Auch die Theorie der erhöhten PTH-vermittelten Knochenresorption, die aufgrund der erhöhten renalen Calciumausscheidung erfolgen könnte, kann nicht bestätigt werden (Chan et al. 1992; Evans et al. 1997; Sellmeyer et al. 2002). Aus diesem Grund erscheint es wichtig, weitere physiologische Mechanismen zu identifizieren, die beim Einfluss von Kochsalz auf den Knochenstoffwechsel eine Rolle spielen könnten.

Wissenschaftliche Studien zeigen, dass eine hohe Kochsalzzufuhr auch einen Einfluss auf den Säure-Basen Haushalt des Körpers ausüben kann. In Tierstudien wird von einem erniedrigten Plasma pH Wert und Bikarbonat Spiegel sowohl bei salz-sensitiven Ratten als auch bei Ratten mit Hypertonie berichtet (Lucas et al. 1988). Beim Menschen konnte dies in einem Versuch von Sharma et al. (Sharma et al. 1990) bestätigt werden. Da in einem anderen Versuch von Sharma et al. (Sharma et al. 1993) die Verabreichung von Ammoniumchlorid (als Säure) bei hoher und niedriger Salzzufuhr sowohl bei salz-sensitiven als auch bei salz-resistenten Personen nicht zu einer veränderten renalen Säureexkretions-Kapazität führte, stellten Sharma & Distler (Sharma und Distler 1994) die Hypothese auf, dass eine erhöhte metabolische Säureproduktion und nicht ein Defekt in der renalen Säureexkretion als Ursache der metabolischen Azidose bei salz-sensitiven Personen anzusehen ist. Weiterhin wurde festgestellt, dass auch die Infusion großer Mengen hyper- oder auch isotoner Kochsalzlösungen eine metabolische Azidose hervorrufen kann (Kellum 2002; Stephens und Mythen 2000; Story et al. 2000). Eine kürzlich veröffentlichte epidemiologische Studie zeigt die Natriumchloridzufuhr als einen unabhängigen Faktor der Diät, der den Säure-Basen Haushalt in Form eines säureproduzierenden Effektes verändert (Frassetto et al. 2007). Obwohl die Ursache der erhöhten Säureproduktion zurzeit noch unklar ist, wurde über die Folgen einer erhöhten Säureproduktion in der Literatur viel berichtet. In Bezug auf den Calcium- und Knochenstoffwechsel zeigen in vitro und in vivo Untersuchungen, dass der

Knochen eine homöostatische Rolle bei der Pufferung von Säuren spielen kann (Arnett 2003; Burton 1992; Bushinsky et al. 1993a; Bushinsky et al. 1993b; Bushinsky 1996; Bushinsky et al. 1999; Bushinsky 2001; Bushinsky und Lechleider 1987; Eiam-ong und Kurtzman 1994; Green und Kleeman 1991; Krieger et al. 2003; Krieger et al. 2004; Lemann, Jr. et al. 2003; Lennon et al. 1966; New 2002), was eine mögliche Beteiligung des Säure-Basen Haushaltes in Bezug auf den Einfluss von Kochsalz auf den Knochenstoffwechsel erklären könnte.

2.4 Kochsalz und Knochenstoffwechsel bei Astronauten

Astronauten stellen in Bezug auf die Kochsalzzufuhr und den Knochenstoffwechsel eine vulnerable Bevölkerungsgruppe dar. Zum einen zeigen Nährstoffauswertungen verschiedener Weltraummissionen, dass die tägliche Kochsalzzufuhr der Astronauten im Weltall höher liegt als die Zufuhr auf der Erde (ca. 200 - 400 mmol Natrium) (Heer et al. 2000b) und zum anderen führt die Immobilisation, bedingt durch die Schwerelosigkeit, zu einem massiven Abbau von Knochenmasse, -dichte (Caillot-Augusseau et al. 1998; Caillot-Augusseau et al. 2000; LeBlanc et al. 1998; Smith et al. 2005). Wenn eine hohe Kochsalzzufuhr den immobilisationsbedingten Knochenabbau noch verstärken würde, wäre dies als sehr negativ für die Gesunderhaltung der Astronauten anzusehen. Gleichzeitig bewirkt die fehlende Schwerkraft - aufgrund des veränderten hydrostatischen Druckes - eine Flüssigkeitsverschiebung von den unteren in die oberen Extremitäten von etwa 1,5 bis 2 L (Leach 1979; Norsk 1992; Parazyński et al. 1991), was zu Veränderungen im Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt führt. Die MIR '97 Mission zeigte, dass bereits eine Zufuhr von 180 mmol Natrium im Weltraum zu einer Natriumspeicherung ohne Flüssigkeitsretention führte, während dies im Kontrollversuch nur bei höheren Natriumzufuhrmengen auf der Erde zu beobachten war (Drummer et al. 2000).

Im Bereich der wissenschaftlichen Weltraumforschung auf der Erde werden verschiedene Modelle genutzt, um physiologische Veränderungen in Schwerelosigkeit zu simulieren. Die Bettruhe in 6° Kopftieflage (head-down-tilt bed rest, HDTBR) (Abbildung 1) stellt ein solches Simulationsmodell für einen Teil der physiologischen Veränderungen in Schwerelosigkeit dar (Smith et al. 2002). Das

gesamte Bett ist dabei kopfwärts um 6° nach unten geneigt. Wie unter Weltraumbedingungen führt dies zu einer Flüssigkeitsverschiebung in die oberen Extremitäten und gleichzeitig zu einer Entlastung der Knochen (Leach 1979; Lueken et al. 1993).

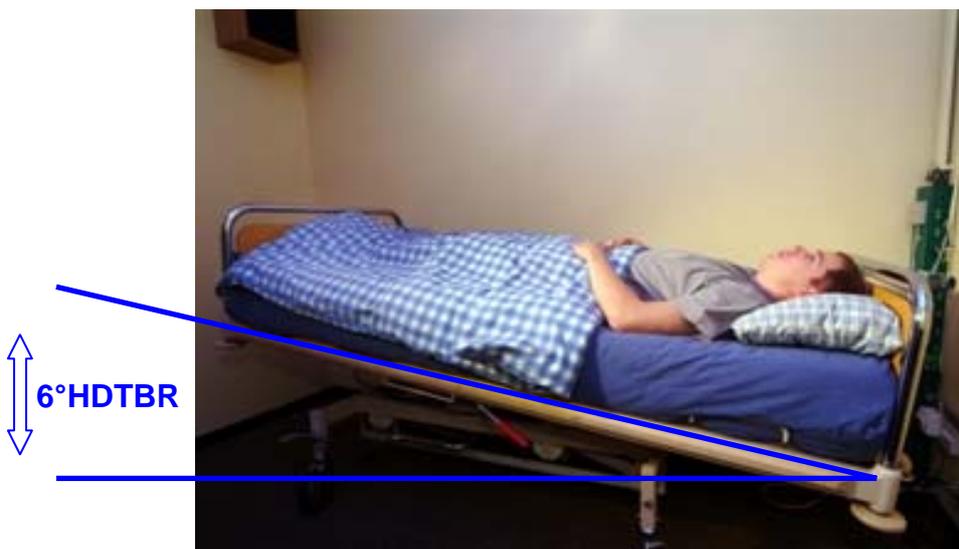


Abbildung 1: Modell der 6° Kopftieflage zur Simulation von physiologischen Veränderungen in Schwerelosigkeit

Verschiedene Kopftieflage-Studien zeigen, dass die Immobilisation, aufgrund der fehlenden mechanischen Belastung der gewichtstragenden Knochen, eine Erhöhung der Knochenresorptionsrate und eine Erniedrigung der Knochenformationsrate hervorruft (Andrews 1997; Fiore et al. 1999; Kim et al. 2003; LeBlanc et al. 1990; Scheld et al. 2001; Smith et al. 1998). Baecker et al. (Baecker et al. 2003) zeigten, dass die Knochenresorption bereits am zweiten Tag der Bettruhe in 6° Kopftieflage signifikant ansteigt. Der zusätzliche Effekt von Kochsalz auf den Knochenstoffwechsel während der Immobilisation wurde bisher nur in einer Studie an Ratten untersucht (Navidi et al. 1995). Navidi et al. konnten nach 2 Wochen in einem Immobilisationsmodell für Ratten (tail suspension) jedoch keine kochsalzbedingte verstärkte Knochenresorption feststellen. Bezüglich des Natriumhaushaltes konnte in Bettruhe-Studien mit 6° Kopftieflage und durchschnittlicher Kochsalzzufuhr (200

mmol) ein Anstieg der renalen Natriumexkretion zu Beginn der Kopftieflage beobachtet werden, der bis zum 4. Tag wieder auf das Ausgangsniveau zurückging (Bestle et al. 2001; Gharib et al. 1992; Millet et al. 2001). Ähnlich verhält es sich mit der Chloridausscheidung und dem Urinvolumen (Grenon et al. 2004). Als Grund hierfür wird der Henry-Gauer Reflex angesehen, der bei einem erhöhten Druck im Brustkorb (erhöhter zentraler Venendruck) - bedingt durch die Flüssigkeitsverschiebung in die oberen Extremitäten - die Produktion des Hormons Adiuretin drosselt, was schließlich eine erhöhte Diurese und Natriurese zur Folge hat. Bezüglich der Natriumspeicherung bei hoher Kochsalzzufuhr während 6° HDTBR gibt es derzeit noch keine publizierten Studien.

2.5 Fragestellungen der Arbeit

In dieser Arbeit sollen, im Hinblick auf die aktuelle Literatur, folgende Fragestellungen anhand von zwei streng kontrollierten Interventionsstudien untersucht werden:

1. Wie wird Natrium unter den Bedingungen einer hohen Kochsalzzufuhr bei ambulanten (Studie 1) und immobilisierten (Studie 2) gesunden männlichen Probanden gespeichert?
2. Führt eine hohe Kochsalzzufuhr über die Erzeugung einer metabolischen Azidose zu einem Anstieg des Knochenabbaus (Studie 1 und Studie 2)?
3. Kann eine hohe Kochsalzzufuhr den durch 14-tägige Immobilisation (HDTBR) bedingten Knochenabbau noch verstärken (Studie 2)?

3 Material und Methoden

3.1 Versuchsdesign

Bei den im Folgenden beschriebenen Studien handelt es sich um zwei nacheinander durchgeführte metabolische Bilanzstudien mit gesunden, jungen, männlichen Probanden. Die erste Studie (Studie 1) wurde im August 2003 durchgeführt, die zweite Studie (Studie 2) im Zeitraum von September 2005 bis April 2006. Das Ziel der Studien bestand darin, den Einfluss einer hohen Kochsalzzufuhr auf die Natriumspeicherung, den Säure-Basen Haushalt und den Knochenstoffwechsel bei ambulanten (Studie 1) und immobilisierten (Studie 2) Probanden zu untersuchen. Bei beiden Studien handelte es sich um stationäre Studien, die im metabolischen Labor des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt (DLR) im Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin durchgeführt wurden. Die Bezeichnung „ambulant“ in Studie 1 bezieht sich hierbei nicht auf einen ambulanten Aufenthalt, sondern bedeutet, in Anlehnung an die englische Bezeichnung „ambulatory“ für „gehfähig“, dass sich die Probanden während ihres stationären Aufenthaltes frei im Labor bewegen konnten und nicht wie in Studie 2 in 6° Kopftiefe immobilisiert waren.

3.1.1 Ethikkommission

Beide Studien wurden von der Ethikkommission der Ärztekammer Nordrhein begutachtet und als ethisch unbedenklich angesehen. Die Probanden wurden ausführlich über den Ablauf und die möglichen Risiken der einzelnen Experimente in der Studie informiert und haben vor Studienbeginn eine Einverständniserklärung zur freiwilligen Teilnahme an der Studie unterschrieben.

3.1.2 Probandenauswahl

Die Probandensuche beider Studien erfolgte mit Hilfe von Radioaufrufen, Zeitungsanzeigen und Aushängen an Universitäten.

Es wurden jeweils männliche, gesunde Probanden im Alter zwischen 20 und 35 Jahren mit einem Körpergewicht (KG) von 65 - 85 kg und einer Körpergröße von 180 ± 10 cm gesucht. Voraussetzung für die Teilnahme an den Studien war eine erfolgreich absolvierte medizinische und psychologische Einschlussuntersuchung.

Die medizinische Einschlussuntersuchung setzte sich aus den folgenden Untersuchungen zusammen:

1. allgemeine Anamnese
2. klinisch-chemische Untersuchung (Kreatinin, Harnstoff, Eiweiß, Albumin, SGOT, SGPT, γ GT, Lipase, alkalische Phosphatase, Elektrolyte, Glucose)
3. Hämatologie (kleines Blutbild, Blutsenkung)
4. Ruhe-EKG, Belastungs-EKG
5. HIV- und Hepatitis-Test

Aufgrund der Immobilisation in Studie 2 erfolgte zusätzlich ein Thrombophiliescreening zur Abschätzung des Thromboserisikos der Probanden (ATIII, Prot. C und S-Akt., F-V-Leiden, Prothrombinmut, Lupus-PTT).

Bedingung für eine mögliche Teilnahme an den Studien waren Normalwerte in den genannten Untersuchungsparametern 1-4 sowie ein negativer HIV- und Hepatitis-Test. Bei Studie 2 wurde außerdem ein unauffälliges Thrombophiliescreening gefordert. Folgende Faktoren führten zusätzlich zum Ausschluss: Drogen-, Medikament- oder Alkoholabusus (regelmäßiger Genuss von mehr als 20-30 g Alkohol pro Tag), Rauchen, Adipositas, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Nierenerkrankungen, eine Neigung zur Keloidbildung, rheumatische Erkrankungen, Knochenbrüche innerhalb des letzten Jahres, die Teilnahme an einer anderen klinischen Studie innerhalb der letzten 30 Tage vor Beginn der Studie, eine Blutspende innerhalb der vergangenen 3 Monate und eine fehlende schriftliche Einverständniserklärung vor Beginn der Studie.

Nach erfolgreich abgelegter medizinischer Untersuchung erfolgte die psychologische Auswahl anhand eines psychologischen Fragebogens (FSKN: Frankfurter Selbstkonzeptskalen von Ingrid M. Deusinger) und eines persönlichen Gespräches mit Psychologen des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin, Abteilung Luft- und Raumfahrtpsychologie aus Hamburg, die gezielte psychologische Fragen mit Bezug auf das jeweilige Versuchsdesign stellten.

Nach Begutachtung aller medizinischen und psychologischen Tests wurden 9 Probanden für Studie 1 und 8 Probanden für Studie 2 ausgewählt. Bei der Auswahl wurde zusätzlich das exakte Körpergewicht berücksichtigt. Da die Kochsalzzufuhr pro kg Körpergewicht berechnet wurde, sollten die Körpergewichte der Probanden nicht mehr als ± 5 kg (SD) auseinander liegen.

3.1.2.1 Anthropometrische Daten der Probanden

Zur Charakterisierung der Probanden sind ihre anthropometrischen Daten (Alter, Größe, Gewicht, BMI) in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4: Anthropometrische Daten

	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg/m ²)
Studie 1	25,6 \pm 3,1	181,3 \pm 4,0	71,5 \pm 4,0	21,9 \pm 1,7
Studie 2	26,3 \pm 3,5	179,9 \pm 3,1	78,5 \pm 4,1	24,3 \pm 1,1

3.1.3 Studiendesign

3.1.3.1 Studie 1

Studie 1 dauerte 28 Tage und wurde in 4 Studienphasen mit unterschiedlicher Kochsalzzufuhr unterteilt. Während der ersten sechs Tage (Phase 1) erhielten die Probanden eine Zufuhr von 0,7 mmol NaCl/kgKG/Tag (ca. 2,9 g NaCl/Tag), in den nächsten sechs Tagen (Phase 2) 2,8 mmol NaCl/kgKG/Tag (ca. 11,5 g NaCl/Tag), in den darauf folgenden 10 Tagen (Phase 3) 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag (ca. 31,6 g NaCl/Tag) und in den letzten sechs Tagen (Phase 4) wiederum 0,7 mmol NaCl/kgKG/Tag (siehe Abbildung 2).

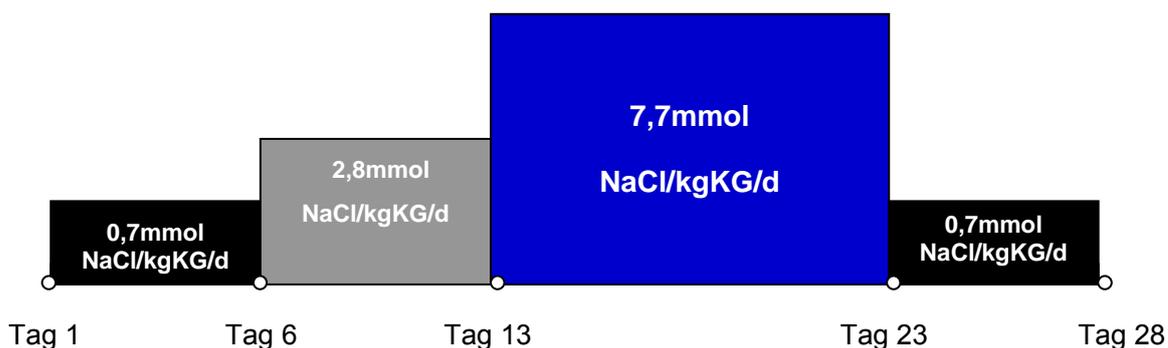


Abbildung 2: Studiendesign Studie 1

3.1.3.2 Studie 2

In Studie 2 wurde das Simulationsmodell der Bettruhe mit 6° Kopftieflage (head-down-tilt bed rest, HDTBR) genutzt, um einen Teil der physiologischen Veränderungen in Schwerelosigkeit zu simulieren (siehe 2.4). Die Studie untergliederte sich in zwei Experimenteile. Jeder Experimentteil beinhaltete 21 stationäre Studientage und wurde in eine 4-tägige Adaptationssphase (aufrecht und 2,8 mmol NaCl/kgKG/Tag), eine 14-tägige Interventionsphase (HDTBR und 0,7 mmol NaCl/kgKG/Tag oder 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag) und eine 3-tägige Erholungsphase (aufrecht und 2,8 mmol NaCl/kgKG/Tag) unterteilt (siehe Abbildung 3). Jeder Proband absolvierte im cross-over Design beide Experimenteile.

Adaptation (4 Tage) 2,8 mmol NaCl/kgKG/d	Intervention (14 Tage) 7,7 mmol NaCl/kgKG/d + 6° HDTBR	Erholung (3 Tage) 2,8 mmol NaCl/kgKG/d
2,8 mmol NaCl/kgKG/d	0,7 mmol NaCl/kgKG/d + 6° HDTBR	2,8 mmol NaCl/kgKG/d

Abbildung 3: Studiendesign Studie 2

3.1.4 Metabolisches Labor

Beide Studien wurden im metabolischen Labor, genannt AMSAN (Arbeitsmedizinische Simulationsanlage), des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt (DLR), Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin, in Köln-Porz durchgeführt. Das AMSAN ist eine voll klimatisierte 300 m² große Anlage, bestehend aus 8 abgetrennten Schlafzimmern, 3 Badezimmern, einem Aufenthaltsraum mit Wohn- und Essbereich, 4 Untersucherräumen, einem Biochemielabor, einem Sozialraum für das Personal und einer metabolischen Küche, in der die Mahlzeiten für die Probanden zubereitet werden (siehe Abbildung 4 und Abbildung 5).

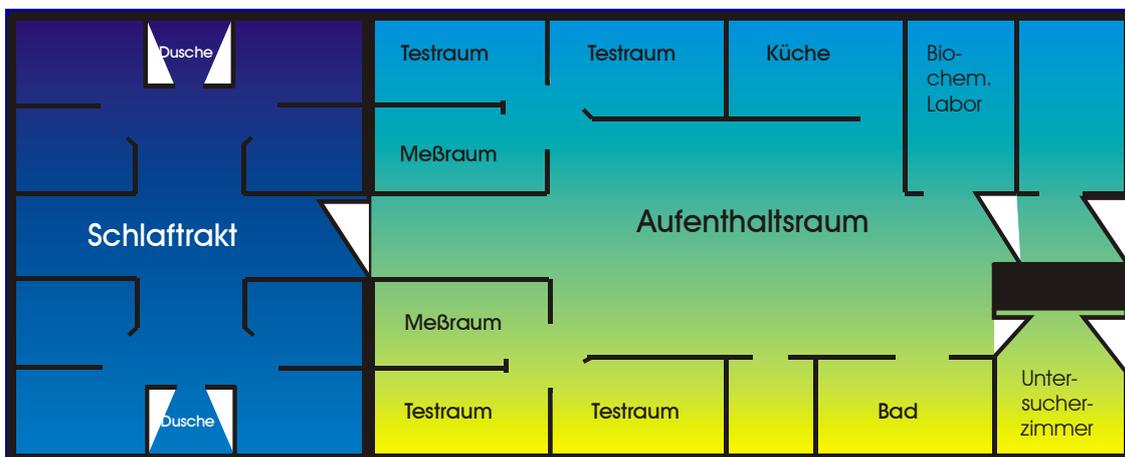


Abbildung 4: Grundriss des metabolischen Labors (DLR, Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin)



Abbildung 5: Schlaftrakt (Bild oben), Aufenthaltsraum (Bild unten links), metabolische Küche (Bild unten rechts)

Die Umgebungsbedingungen Temperatur und Luftfeuchte wurden in beiden Studien konstant gehalten (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Klimatische Bedingungen

	Temperatur Schlaftrakt (°C)	Temperatur Aufenthaltsraum (°C)	Luftfeuchte Schlaftrakt (%)	Luftfeuchte Aufenthaltsraum (%)
Studie 1	19,4 ± 0,7	22,1 ± 1,1	60,4 ± 5,2	56,4 ± 4,2
Studie 2	22,5 ± 0,9	23,0 ± 0,75	58,6 ± 5,6	56,8 ± 4,0

Die Probanden durften das Labor während der gesamten Dauer der Studien nicht verlassen. Um den Natriumverlust über die Haut möglichst gering zu halten, durften keine sportlichen Aktivitäten über den Zeitraum der Studiendauer ausgeübt werden.

In Studie 2 durften alle Alltagshandlungen (Essen, Trinken, Urin- und Fäzesabgabe) sowie Freizeitbeschäftigungen (z.B. Lesen, Lernen, Fernsehen) während der Bettruhephase mit Kopftieflage nur im Liegen stattfinden. Zum Duschen wurden die Probanden auf einer am Kopfende um 6° nach unten geneigten Liege von einer Pflegekraft in die Dusche gefahren. Um sicher zu gehen, dass alle Probanden die vorgeschriebene Liegeposition einhielten, wurden sie in der Kopftieflagephase per Video überwacht. Jeder Proband hatte Zugriff auf eine Sprechanlage, mit welcher er sowohl mit dem Personal als auch mit anderen Probanden kommunizieren konnte.

3.1.5 Diät und Kochsalzzufuhr

Alle Probanden erhielten in beiden Studien eine individuell angepasste, exakt definierte und kontrollierte Diät, in der sich nur die jeweilige Kochsalzzufuhr entsprechend des Studiendesigns änderte. Die Ernährungspläne wurden entsprechend unten aufgelisteter Anforderungen an die Nährstoffzufuhr mit dem Programm PRODI 4.5 (Kluthe 2001) individuell für jeden Probanden erstellt.

- Die Energiezufuhr richtete sich nach dem individuellen Energieverbrauch eines jeden Probanden. In Studie 1 wurde der Grundumsatz (basal metabolic rate, BMR) entsprechend der WHO Formel für Männer unter 30 ($BMR = 15,3 \times KG + 679$) (WHO (World Health Organization) 1985) berechnet, wobei in Studie 2 eine genauere Bestimmung des Grundumsatzes mittels indirekter Kalorimetrie (Deltatrac II MBH 200 Metabolic Monitor) erfolgte. Zur Festlegung des Gesamtenergiebedarfs wurde der Grundumsatz mit einem Aktivitätslevel (PAL, physical activity level, (DGE 2000)) von 1,4 für die ambulanten Phasen und 1,1 für die Bettruhephasen multipliziert. Zusätzlich wurden 10% des Gesamtenergiebedarfs aufgrund der nährstoffinduzierten Thermogenese addiert (Noack 1999).
- Die Proteinzufuhr wurde pro kg Körpergewicht festgelegt (Studie 1: 1,4g/kg KG/Tag; Studie 2: 1,3 g/kgKG/Tag) und richtete sich im Zuge der Vergleichbarkeit an die Zufuhr vorheriger „Salzstudien“, die am Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin durchgeführt wurden.
- Die Fettzufuhr durfte 30% des Gesamtenergiebedarfs nicht überschreiten

- Die Kohlenhydratzufuhr deckte mit 50-55% den restlichen Energiebedarf
- Die Calciumzufuhr lag zwischen 1000 und 1100 mg/Tag
- Vitamin D₃ wurde täglich in einer Menge von 400 IE supplementiert (Dekristol 400 I.E., Jenapharm), da die Vitamin D Synthese in der Haut durch fehlende UV-Exposition im Labor nicht gegeben war und Vitamin D einen wichtigen Einflussfaktor auf den Knochen- und Calciumstoffwechsel darstellt (Morley 2007; Reichrath et al. 2007)
- Die Flüssigkeitszufuhr über Essen und Getränke wurde limitiert auf 40 ml/kgKG/Tag
- Alle anderen Nährstoffe erreichten mindestens die Empfehlungen der D-A-CH Referenzwerte (DGE 2000)

Die oben angeführten Anforderungen an die Nährstoffzufuhr konnten aufgrund der unterschiedlichen Anforderungen an die Kochsalzzufuhr jedoch nur mit dem Einsatz von zum Teil unterschiedlichen Lebensmitteln erreicht werden. Das Erreichen einer Kochsalzmenge von 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag ist durch „einfaches Zusalzen“ unter Verwendung der gleichen Lebensmittel wie bei einer Zufuhr von 0,7 mmol NaCl/kgKG/Tag aus geschmacklichen Gründen nicht möglich.

Für die Berechnung der individuellen Ernährungspläne wurden für unverarbeitete Lebensmittel die Nährwertanalysewerte des Programms PRODI (Kluthe 2001) verwendet. PRODI enthält eine umfassende Datenbank mit Lebensmittelanalysen des Bundeslebensmittelschlüssel (1999) und des SOUCI-Fachmann-Krauts (2000). Verarbeitete Lebensmittel wurden von der Firma Apetito AG (Rheine, Deutschland) bezogen, die uns die Nährwertanalysen ihrer Produkte zur Verfügung stellte. Im Allgemeinen handelte es sich um Gerichte aus der Kategorie „natriumarme Produkte“, die von uns entsprechend den Ernährungsplänen bei hoher Kochsalzzufuhr nachgesalzen wurden. Natriumchloridreiche Lebensmittel, deren Natriumgehalt höher als 40 mmol/100 g ist und deren Natriumchloridgehalt sehr schwanken kann, wie z.B. bei Käse oder Schinken, wurden lebensmittelchemisch analysiert (Fa. Analytis GmbH, Köln, Deutschland). Die entsprechenden Nährwerte wurden in die PRODI Datenbank integriert. Brot- und Backwaren wurden anhand

eigener Rezepte entsprechend mit hoher oder niedriger Kochsalzzugabe selbst gebacken.

Alle Probanden erhielten pro Tag 6 Mahlzeiten: Frühstück (8:00 Uhr), Snack (10:30 Uhr), Mittagessen (13:00 Uhr), Snack (16:00 Uhr), Abendessen (19:00 Uhr), Snack (21:30 Uhr) und ein Spätgetränk von 300 ml um 23:00 Uhr.

Entsprechend der vorbereiteten Ernährungspläne wurden alle Lebensmittel einer Mahlzeit für jeden Probanden auf 0,1 g genau in der metabolischen Küche des Labors abgewogen (Sartorius Präzisionswaage Typ BP 2100). Das Kochsalz wurde anschließend mit einer Genauigkeit von 0,01 g auf die fertigen Mahlzeiten verteilt. Unter der Kontrolle des Aufsichtspersonals wurden die Probanden aufgefordert, alle Mahlzeiten vollständig zu verzehren.

3.1.6 Untersuchungsmethoden

3.1.6.1 Blutabnahmen

Blutabnahmen fanden in den Studien an den in Tabelle 6 aufgeführten Tagen statt. Somit erfolgten in Studie 1 je zwei Blutabnahmen in Phase 1, 2 und 4 und drei Blutabnahmen in Phase 3. In Studie 2 erfolgten jeweils zwei Blutabnahmen in der Adaptations- und Erholungsphase und sechs in der Interventionsphase.

Tabelle 6: Blutabnahmezeitpunkte in Studie 1 und Studie 2

	Tage der Blutabnahme
Studie 1	Tag 4,6,10,12,15,20,22,24,26,28
Studie 2	Tag 3,4,6,9,11,14,16,18,20,21

Alle Blutabnahmen erfolgten unmittelbar nach dem Wecken, d.h. nüchtern und in liegender Position. Als Blutabnahmesystem wurde das Sarstedt-System[®] verwendet. Für die Bestimmung der verschiedenen Parameter wurden Monovetten mit unterschiedlichen Additiven benötigt. EDTA Plasma (auf Eis gekühlt) wurde für die Bestimmung von Osteocalcin (Ocal), Renin und AVP und Serum für die Bestimmung von Aldosteron, knochenspezifischer alkalischer Phosphatase (bAP),

aminoterminalen Propeptid des Typ 1 Prokollagens (PINP), Parathormon (PTH) und der Elektrolyte Natrium, Kalium, Calcium und Chlorid benötigt. Die Monovetten wurden unmittelbar nach der Abnahme zentrifugiert (3.500 rpm, 10 min) und aliquotiert. Die Aliquots wurden dann bis zur weiteren Analyse bei -20°C (Elektrolyte, PINP, Aldo) bzw. bei -80°C (AVP, Renin, PTH, bAP, Ocal) tiefgekühlt.

3.1.6.2 Blutgasanalyse

Zur Bestimmung der Parameter des Säure-Basen Haushaltes wurden Blutgasanalysen durchgeführt. In Studie 1 fand die Blutgasanalyse immer am letzten Tag einer Kochsalzphase (Tag 6, 12, 22, 28) statt. In Studie 2 wurden in der Adaptationsphase (Tag 3, 4) und Erholungsphase (Tag 20, 21) jeweils 2x und in der Interventionsphase (Tag 6, 9, 11, 14, 16, 18) 6x die Blutgase bestimmt. Die Blutgasanalyse erfolgte mit dem Blutgasanalysegerät ABLTM5 (Firma Radiometer, Kopenhagen) in einer Doppelbestimmung und wurde nur von geübtem Personal durchgeführt. Dabei wurde dem Probanden mit einer Kapillare Blut aus der Fingerbeere entnommen und sofort im Analysator bestimmt. Die Probe durfte nicht koaguliert sein und keine Luftblasen enthalten. Das Blutgasgerät ABLTM5 misst dabei den pH Wert und die Partialdrücke für Sauerstoff und Kohlendioxid (PO₂ und PCO₂), welche dann entsprechend der Henderson-Hasselbach-Gleichung (Guyton und Hall 2000a) zur weiteren Berechnung von Bikarbonat (HCO₃⁻) und Base Excess (BE) verwendet werden. Laut Geräteherstellerangabe liegt die Tag zu Tag Variation beim pH Wert bei 0,003; bei PCO₂ bei 0,6 und bei PO₂ bei 1,0.

3.1.6.3 Urinsammlung

In beiden Studien wurde an jedem Studientag ein 24-h Urin gesammelt. Die Sammelperiode begann morgens um 7:00 Uhr und endete um 7:00 Uhr des Folgetages mit der Abgabe des ersten Morgenurins. Bei Harndrang erhielten die Probanden jeweils eine Urinflasche. Nach Notierung der genauen Urinabgabezeit wurde die Flasche im Kühlschrank (4°C) im Dunkeln aufbewahrt. Am Ende einer 24-h Periode (7:00 - 7:00 nächster Tag) wurden alle Einzelurine der 24-h Sammelperiode zusammengeschüttet, gut gemischt und zur Bestimmung der einzelnen Parameter aliquotiert. In Studie 2 wurde der pH Wert vor dem Einfrieren

der 24-h Urine mit einer pH Elektrode (inoLab pH 720, WTM, Weilheim, Deutschland) für die Bestimmung von Natrium, Kalium und Calcium mit 6 molarer Salzsäure auf einen Wert von pH 3-4 titriert. Die Ansäuerung erfolgte, weil die Bestimmung von Calcium es erforderlich macht. In Vorversuchen mit und ohne Ansäuerung konnte gezeigt werden, dass diese Einstellung des pH Wertes auf 3-4 keinen Einfluss auf die Konzentration von Natrium und Kalium hatte. Die Aliquots wurden bis zur weiteren Analyse bei -20°C tiefgekühlt. Aus dem 24-h Urin wurden folgende Parameter bestimmt: Urinvolumen, Carboxterminales Kollagen-Typ-I-Teleopeptid (CTX), Aminoternales Kollagen-Typ-I-Teleopeptid (NTX), Natrium, Kalium und Calcium.

3.1.6.4 Fäzessammlung

In Studie 2 wurde zusätzlich zur Urinsammlung auch jede Fäzesprobe gesammelt. Dazu erhielten die Probanden bei jeder Fäzesabgabe eine mit Datum und Uhrzeit gekennzeichnete Plastiktüte, in die sie die Fäzes abgeben sollten. Die gefüllte Plastiktüte wurde gewogen und anschließend bis zur weiteren Bestimmung bei -20°C tiefgekühlt.

3.2 Parameter des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes

3.2.1 Serumelektrolytkonzentrationen (Natrium, Kalium, Chlorid)

Die Serumelektrolytkonzentrationen wurden in Studie 1 mit einer ionenselektiven Elektrode des automatischen Analysesystems Hitachi 747 bestimmt. In Studie 2 wurde die Serumchloridkonzentration mit einer ionenselektiven Elektrode des automatischen Analysesystems COBAS Integra 400 bestimmt, während die Serumnatrium- und Serumkaliumkonzentration flammenphotometrisch (Elektrolytautomat EFOX 5053, Eppendorf) bestimmt wurden. Zum Ausschluss methodenspezifischer Unterschiede wurde die Natriumkonzentration in Studie 2 zusätzlich zur Kontrolle mit der ionenselektiven Elektrode (COBAS Integra 400) analysiert, wobei keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden konnten.

3.2.2 Aldosteron-, Renin-, und AVP- Konzentration im Serum

Aldosteron, Renin und Arginin-Vasopressin (AVP) als wichtige Hormone des Elektrolythaushaltes wurden im Nüchternblut mit kommerziell erwerblichen Radioimmunoassay analysiert (Aldosteron: Adaltis Freiburg, Deutschland, Renin: Nichols Institute Diagnostics, San Juan Capistrano, CA, USA (Studie 1); Diagnostic System Laboratories (DSL) Deutschland, Sinsheim (Studie 2); AVP: Mitsubishi, Yuka, Japan (Tracer NEX128 PerkinElmer, Massachusetts, USA), Waters GmbH, Eschborn, Germany (Extraktion über C18 Säulen).

Der Nachweisbereich für Aldosteron lag zwischen 6,0 und 2500 pg/ml. Die Intraassayvarianz lag bei 11,5% (Studie 1) bzw. bei 5,8% (Studie 2), die Interassayvarianz bei 6,1% (Studie 2).

Der Nachweisbereich für Renin lag zwischen 40 und 6045 mU/L in Studie 1 und zwischen 5-500 pg/ml in Studie 2. Die Intraassayvarianz lag bei 1,9% (Studie 1) bzw. bei 1,8% (Studie 2), die Interassayvarianz bei 3,1% (Studie 2).

Der Nachweisbereich für AVP lag zwischen 0,625 und 80 pg/ml. Die Intraassayvarianz lag bei 4,3% (Studie 1) bzw. bei 4,4% (Studie 2), die Interassayvarianz bei 7,2 % (Studie 2).

3.2.3 Natrium- und Kaliumausscheidung über Urin und Fäzes

Um genaue tägliche Bilanzen der Elektrolyte berechnen zu können, wurden sowohl die Ausscheidungen über den Urin als auch über die Fäzes (nur in Studie 2) bestimmt. Die Konzentration von Natrium und Kalium im Urin wurde in Studie 1 mit einer ionenselektiven Elektrode des automatischen Analysesystems Hitachi 747 bestimmt. In Studie 2 wurden die Konzentrationen flammenphotometrisch (Elektrolytautomat EFOX 5053, Eppendorf) ermittelt. Die ermittelten Konzentrationsangaben wurden zur Errechnung der täglichen Bilanz mit dem Urinvolumen des zugehörigen Tages multipliziert.

Aufgrund möglicher veränderter Absorptionsraten bedingt durch Kopftieflage, wie sie in Form einer Erniedrigung bei Calcium von LeBlanc et al. (LeBlanc et al. 1995) gemessen wurden, wurde in Studie 2 die Ausscheidung von Kalium und Natrium

auch über die Fäzes analysiert. Dazu wurden die Fäzesproben jedes Probanden zuerst in einem Muffelofen (CeramoTherm Typ Tmax 900°) bei 105°C für 21,5 Stunden getrocknet und anschließend für 24 weitere Stunden bei 600°C verascht. Zur Vorbereitung auf die flammenphotometrische Bestimmung von Kalium und Natrium wurden die Ionen mit Schwefelsäure (5N bzw. 2,5 mol/L) aus der Asche herausgelöst. Zur Bestimmung der Kaliumkonzentration wurde die Probe 1:100 verdünnt, da die Konzentration sonst nicht im Messbereich des Flammenphotometers lag. Die Natriumkonzentration wurde unverdünnt gemessen. Alle Proben wurden dann mit dem Flammenphotometer (Elektrolytautomat EFOX 5053, Eppendorf) in einer Doppelbestimmung gemessen. Die Berechnung auf die Gesamtaschemenge Fäzes erfolgte anhand folgender Formeln:

$$\text{Natriummenge im Fäzes (mg)} = \frac{C * G * S * A}{1000 * E} \quad \text{wobei:}$$

C = gemessene Natriumkonzentration (mmol/L) als Mittelwert der Doppelwertbestimmung

G = Aschegewicht der Fäzesprobe (g)

S = Schwefelsäurevolumen (ml)

A = Atomgewicht von Natrium (23 mg/mmol)

E = eingewogene Aschemenge (g)

$$\text{Kaliummenge im Fäzes (mg)} = \frac{C * G * V * S * A}{1000 * E} \quad \text{wobei:}$$

C = gemessene Kaliumkonzentration (mmol/L)

G = Aschegewicht der Fäzesprobe (g)

V = Verdünnungsfaktor

S = Schwefelsäurevolumen (ml)

A = Atomgewicht von Kalium (39 mg/mmol)

E = eingewogene Aschemenge (g)

3.2.4 Natrium-, Kalium- und Wasserbilanz

Die Berechnung der Bilanzen soll zum einen Aufschluss über die gespeicherte Natriummenge und zum anderen einen Hinweis auf die Art der Natriumspeicherung (Speicherung mit gleichzeitiger Flüssigkeitsretention, Speicherung im Austausch mit Kalium) geben.

Die Natriumbilanz wurde aus der oralen Natriumzufuhr und der Natriumausscheidung über Urin und Fäzes (Fäzes nur in Studie 2) berechnet.

Na⁺- Bilanz (mmol)

= Na⁺- Zufuhr in einem definierten Zeitraum (mmol)

- Na⁺- Menge im Urin im zugehörigen Zeitraum (mmol)

- Na⁺- Menge im Fäzes (nur in Studie 2) im zugehörigen Zeitraum (mmol)

Da Natrium fast vollständig absorbiert wird, ist die Ausscheidung von Natrium über die Fäzes auch bei hoher Kochsalzzufuhr sehr gering (Elmadfa und Leitzmann 1998; Heer et al. 2000a; Morlion 1999; Schek 2002) und wurde daher in Studie 1 bei der Berechnung der Natriumbilanz vernachlässigt.

Die Kaliumbilanz wurde aus der oralen Kaliumzufuhr und der Kaliumausscheidung über Urin und Fäzes bestimmt. Dabei wurde die Kaliumausscheidung über die Fäzes nur in Studie 2 tatsächlich gemessen. Im Gegensatz zu Natrium wird Kalium jedoch nicht vollständig absorbiert; täglich werden circa 10% des aufgenommenen Kaliums wieder über das Kolon ausgeschieden (Binder et al. 1999; Demigne et al. 2004; Silbernagl and Despopoulos 2000). Somit entspricht die tägliche Kaliumausscheidung über die Fäzes bei einer durchschnittlichen Kaliumaufnahme von 121 mmol/Tag (DGE 2000) ca. 12,1 mmol. Zur Berechnung der Bilanz in Studie 1 wurde die Ausscheidung über die Fäzes anhand der ermittelten Ergebnisse in Studie 2 entsprechend der Höhe der Kochsalzzufuhr abgeschätzt.

K⁺- Bilanz (mmol)

= K⁺- Zufuhr in einem definierten Zeitraum (mmol)

- K⁺- Menge im Urin im zugehörigen Zeitraum (mmol)

- K⁺- Menge im Fäzes im zugehörigen Zeitraum (mmol)

Die Ausscheidung von Natrium und Kalium über die Haut ist abhängig vom Schweißvolumen und wurde aufgrund der gut kontrollierten Studienbedingungen (geringe körperliche Aktivität, gut kontrollierte Umgebungsbedingungen wie z.B. Luftfeuchte und Temperatur) als gleichbleibend niedrig angesehen und somit in der Berechnung der Bilanz vernachlässigt.

Wasserbilanz (in ml)

= Wasserzufuhr über Lebensmittel und Getränke in einem definierten Zeitraum (ml)

+ Oxidationswasser von Kohlenhydraten (55ml/100g), Fett (107 ml/100g) und Protein (41 ml/100g)

- Urinvolumina im zugehörigen Zeitraum (ml)

- Evaporative Wassermenge im zugehörigen Zeitraum

Die evaporierte Wassermenge, welche den weitgehend temperaturunabhängigen Flüssigkeitsverlust über die Haut und Lunge durch Diffusion und Verdunstung darstellt (Pschyrembel 2004), wurde dabei mit der Formel nach Passmore & Eastwood (Passmore und Eastwood 1989) berechnet.

Evaporation (g) = Körpermasse (g) morgens nüchtern (an Tag X)

+ Masse der verzehrten Lebensmittel und Getränke (g) (an Tag X)

- Urinmasse (g) (an Tag X)

- Fäzesmasse (g) (an Tag X)

- Körpermasse (g) am nächsten Morgen (an Tag X+1)

Da die Fäzes in Studie 1 nicht gesammelt wurden, wurde die tägliche Fäzesmasse anhand der durchschnittlichen täglichen Fäzesmenge aller Probanden aus Studie 2

geschätzt und ging mit einem Wert von ca. 200 g/Tag in die Berechnung der Evaporation in Phase 1 mit ein.

Die Zufuhrmengen (Natrium, Kalium, Wasser) wurden jeweils mit Hilfe der Software PRODI 4.5 (Kluthe 2001) kalkuliert.

Die berechneten Natrium-, Kalium- und Wasserbilanzen werden im Ergebnisteil als kumulative Bilanzen für die verschiedenen Kochsalzphasen dargestellt, wobei jeweils die Mittelwerte der Probanden vom ersten Tag der jeweiligen Phase bis zum letzten Tag der Studienphase (Studie 1) bzw. vom ersten Tag der Interventionsphase (Tag 5) bis zum letzten Tag der Interventionsphase (Tag 18) (Studie 2) aufaddiert wurden.

3.2.5 Körpergewicht

Veränderungen im Körpergewicht können entweder durch einen Muskelmasse-Verlust/-Zuwachs, durch eine inadäquate Energiezufuhr oder durch Veränderungen im Flüssigkeitshaushalt bedingt sein. Aufgrund einer adäquaten und konstanten Energiezufuhr in beiden Studien und durch die Tatsache, dass der Muskel bei allen Probanden gleichen Umgebungsbedingungen ausgesetzt war, werden in dieser Arbeit Körpergewichtsveränderungen als Flüssigkeitsveränderungen betrachtet. Das Körpergewicht wurde in beiden Studien jeden Morgen vor der Blutabnahme auf der Personenwaage (Sartorius, Type DVM 5703 MP 8-1, Präzision ± 5 g) bestimmt. Die Probanden durften zum Wiegen nur zuvor festgelegte Shorts tragen, deren Gewicht zu Beginn der Studie ermittelt wurde. Das Tragen von Schmuck wurde nicht gestattet. Aufgrund der hohen Präzision der Waage wurden die Probanden aufgefordert, für einen kurzen Moment die Luft anzuhalten, damit eine Stabilität der digitalen Anzeige erreicht werden konnte. In der Kopftieflagephase in Studie 2 wurden die Probanden mit einer fahrbaren Liege mit bekanntem Gewicht, deren Kopfteil ebenfalls um 6° nach unten geneigt war, zur Waage gefahren und auf ein vorgefertigtes Gestell, welches sich auf der Waage befand, gehoben.

3.2.6 Plasmavolumen

Um bei möglichen Kochsalz- und/oder HDTBR-bedingten veränderten Plasmavolumina (Deetjen and Speckmann 1994; Waters et al. 2005) die ermittelten

Konzentrationsangaben der Biomarker des Knochenstoffwechsels als absolute Mengen berechnen zu können, wurde in beiden Studien das Plasmavolumen einmal in jeder Studienphase (Studie 1) sowie einmal vor und einmal nach der Interventionsphase in Studie 2 erfasst. In Studie 1 wurde das Plasmavolumen mit Hilfe einer Farbstoff-Verdünnungsmethode (Evans Blue) bestimmt. Initial erfolgte eine basale Blutentnahme aus einer antekubitalen Vene. Nach Injektion von 12-20 mg Evans Blue (New World Trading Corp., 1335 Bennett, USA) erfolgten zu den Zeitpunkten 10, 15, 20 und 30 min weitere Blutentnahmen. Aus den jeweiligen Plasmakonzentrationsänderungen wurde das Plasmavolumen kalkuliert. Da es zum Zeitpunkt der Studie 2 nicht mehr möglich war den Farbstoff Evans Blue vom Markt zu beziehen, musste eine andere Methode zur Bestimmung des Plasmavolumens etabliert werden, die Kohlenmonoxid- (CO-) Rückatmungsmethode (Schmidt und Prommer 2005). Sie beruht auf der Inhalation einer definierten CO-Menge, die nach wenigen Minuten vollständig an das im Blutstrom zirkulierende Hämoglobin (Hb) gebunden ist; es entsteht CO-Hb. Die Bestimmung der Gesamtkörperhämoglobinmenge erfolgt unter Einbeziehung der eingeatmeten CO-Menge, physikalischer Faktoren, wie Luftdruck und Temperatur, sowie dem Anstieg des durch die CO-Inhalation bewirkten CO-Hb-Anteils. Die Teilvolumina des Blutes (Erythrozytenvolumen, Plasmavolumen) und das totale Blutvolumen können anschließend berechnet werden.

3.3 Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels

3.3.1 Serumcalciumkonzentration

Die Bestimmung der Serumcalciumkonzentration erfolgte in Studie 1 mit einer ionenselektiven Elektrode des automatischen Analysesystems Hitachi 747. In Studie 2 wurde die Konzentration flammenphotometrisch (Elektrolytautomat EFOX 5053, Eppendorf) gemessen.

3.3.2 Serum-PTH-Konzentration

Die Bestimmung von intaktem PTH im Nüchternblut erfolgte mit einem zweiseitigen immunoradiometrischen Assay (IRMA) (Studie 1: Nichols Institute Diagnostics, San

Juan Capistrano, CA, USA; Studie 2: Diagnostic System Laboratories (DSL) Deutschland, Sinsheim).

Der Nachweisbereich der Assays lag zwischen 7,5 und 595,0 pg/ml (Studie 1) und zwischen 10 und 2000 pg/ml (Studie 2). Die Intraassayvarianz betrug 2,6% (Studie 1) bzw. 2,1% (Studie 2), die Interassayvarianz 5,9% (Studie 1) bzw. 6% (Studie 2).

3.3.3 Knochenformationsmarker (bAP, Ocal, PINP)

3.3.3.1 Aminoterminales Propeptid des Typ 1 Prokollagens (PINP)

Bei PINP handelt es sich um das aminoternale Ende des Prokollagenmoleküls, ein Vorläufermolekül des Typ-I-Kollagens, welches in den Osteoblasten gebildet wird. Vor dem Einbau in die Knochenmatrix wird PINP abgespalten und gelangt als Peptidfragment in die Zirkulation. Es ist daher ein Maß für die osteoblastäre Kollagenneusynthese (Eriksen et al. 1995; Garnero und Delmas 1997). Der Nachweis wurde mit Hilfe des Radioimmunoassays zur quantitativen Bestimmung der Konzentration von PINP der Firma Orion Diagnostica (Espoo, Finnland) erbracht.

Der Nachweisbereich für den PINP-Assay lag zwischen 5 und 259 µg/L. Die Intraassayvarianz lag bei 2% (Studie 1) bzw. bei 1,34% (Studie 2), die Interassayvarianz bei 1,65% (Studie 2).

3.3.3.2 Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)

bAP ist ein zellmembranständiges Enzym der Osteoblasten. Es wird in der Phase der Kollagenreifung synthetisiert und sezerniert und löst die Einlagerung von Calciumphosphatkristallen aus (Christenson 1997; Schmolke 2001). Die Bestimmung der knochenspezifischen, alkalischen Phosphatase erfolgte in beiden Studien mit dem immunoradiometrischen Test „Tandem-R Ostase®“ (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA).

Der Nachweisbereich des bAP Assays lag zwischen 7,75 und 60,7 µg/L. Die Intraassayvarianz lag bei 7,55% (Studie 1) bzw. bei 4,5% (Studie 2), die Interassayvarianz bei 7,6% (Studie 2).

3.3.3.3 Osteocalcin (Ocal)

Osteocalcin wird nach Vitamin-K-abhängiger Carboxylierung in den Osteoblasten in die Knochenmatrix eingebaut, wo es fest an das Hydroxylapatit der Knochenmatrix bindet. Auf diese Weise werden ca. 70% des neu synthetisierten Osteocalcins in den Knochen eingebaut, während die restlichen 30% im Blut zirkulieren (Delmas 1992). Osteocalcin wurde in Studie 1 mit Hilfe des Radioimmunoassays der Firma Elsa-Ost-Nat (CIS Biointernational, Gif-sur-Yvette, Frankreich) und in Studie 2 mit Hilfe eines Elisas Metra™ der Firma Quidel Corporation (San Diego, CA, USA) bestimmt.

Der Nachweisbereich für Osteocalcin lag zwischen 4,0 und 172 ng/ml (Studie 1) bzw. zwischen 2 und 32 ng/ml (Studie 2). Die Intraassayvarianz lag bei 8,3% (Studie 1) bzw. bei 7,2% (Studie 2), die Interassayvarianz bei 7,8% (Studie 1) bzw. bei 8,6% (Studie 2).

3.3.4 Renale Calciumexkretion (UCa)

Die renale Calciumexkretion (UCa) wurde in Studie 1 mit einer ionenselektiven Elektrode des automatischen Analysesystems Hitachi 747 bestimmt. In Studie 2 wurde die Konzentration flammenphotometrisch (Elektrolytautomat EFOX 5053, Eppendorf) ermittelt. Die ermittelten Konzentrationsangaben wurden zur Errechnung der gesamten täglichen Ausscheidung mit dem Urinvolumen des zugehörigen Tages multipliziert.

3.3.5 Knochenresorptionsmarker (CTX, NTX)

Zur Beurteilung der Aktivität des Knochenabbaus wurden die Marker Carboxyterminales Kollagen-Typ-I-Telopeptid (CTX) und Aminoternales Kollagen-Typ-I-Telopeptid (NTX) in allen 24-h Urinen bestimmt. Bei diesen Markern handelt es sich um sogenannte Telopeptide, die sich an den carboxy- und aminoterminalen Enden der Kollagenfibrillen des Knochen befinden und während der Knochenresorption durch den osteoklastären Kollagenabbau in die Zirkulation freigesetzt und dann über die Niere in den Harn ausgeschieden werden (Christenson 1997; Garnero und Delmas 1998). Die Eignung von CTX und NTX als Resorptionsmarker wurde in mehreren Studien bestätigt (Bollen et al. 1997; Garnero

et al. 1994; Rosen et al. 2000; Taguchi et al. 1998). Die Bestimmung erfolgte mit kommerziell erwerblichen Assays (CTX: Crosslaps® Nordic Bioscience Diagnostic, Herlev, Dänemark; NTX: OsteomarkNTX®, Wampole Laboratories Princeton, New Jersey, USA). Die analysierten Konzentrationsangaben wurden zur Errechnung der gesamten täglichen Ausscheidung mit dem Urinvolumen des zugehörigen Tages multipliziert.

Der Nachweisbereich für den CTX Assay lag zwischen 50 und 7711µg/L. Die Intraassayvarianz lag bei 6,9% (Studie 1) bzw. bei 8,3% (Studie 2), die Interassayvarianz bei 7,3% (Studie 1) bzw. bei 9,0% (Studie 2).

Der Nachweisbereich für den NTX Assay lag zwischen 20 und 3000nM. Die Intraassayvarianz lag bei 9,4% (Studie 1), 12,0% (Studie 2) die Interassayvarianz bei 10% (Studie 1) bzw. bei 14% (Studie 2).

3.4 Parameter des Säure-Basen Haushaltes

3.4.1 Parameter im Blut

Zur Beurteilung des Säure-Basen Status des Körpers wurde der pH Wert, die Bikarbonatkonzentration, der BE Wert, der PCO₂ und der PO₂ Wert im Kapillarblut mittels Blutgasanalyse (siehe Punkt 3.1.6.2) an mehreren Tagen morgens, nüchtern gemessen bzw. aus den ermittelten Daten errechnet.

3.4.1.1 Anionen Lücke

Die Anionen Lücke ist ein weiterer, häufig genutzter Parameter in der klinischen Diagnostik bei azidotischen Störungen des Säure-Basen Haushaltes. Mit der Berechnung der Anionenlücke kann das Verhältnis zwischen bestimmbar und nicht bestimmbar Ionen im Blut abgeschätzt werden. Basierend auf dem Prinzip der elektrischen Neutralität, müssen sich Kationen und Anionen im Blut in Bezug auf die elektrische Ladung ausgleichen. Es können jedoch nicht alle Ionen im Körper routinemäßig bestimmt werden. Die berechnete Anionenlücke repräsentiert daher die Menge der nicht oder nur mit großem Aufwand bestimmbar Anionen (z.B. Phosphat-, Sulfat-, Lactat-Ionen) und wird indirekt aus den Konzentrationen

gemessener Elektrolyte berechnet (Guyton and Hall 2000a; Moe und Fuster 2003). Es gibt zwei Möglichkeiten der Berechnung:

$$\text{Anionenlücke (1)} = [\text{Na}^+] - ([\text{Cl}^-] + [\text{HCO}_3^-]) = 8 - 16 \text{ mmol/L}$$

$$\text{Anionenlücke (2)} = ([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) - ([\text{Cl}^-] + [\text{HCO}_3^-]) = 12 - 20 \text{ mmol/L}$$

Da in beiden Studien auch Kalium im Serum bestimmt wurde, wurde Formel (2) zur Berechnung herangezogen. Die Anionen Lücke wurde nur für die Phase mit hoher Kochsalzzufuhr errechnet, weil nur in diesem Fall eine metabolische Azidose erwartet wurde. Es gibt Azidosen mit vergrößerter Anionen Lücke, d.h. die Bikarbonatkonzentration im Blut ist vermindert, die Chloridkonzentration jedoch nur wenig verändert (vorzufinden z.B. bei diabetischer Ketoazidose, Lactatazidose, Urämie, Aspirin-Vergiftung). Bei Azidosen mit normaler Anionen Lücke wird der Abfall des Bikarbonats durch eine Erhöhung des Chlorids ausgeglichen. Daher nennt man sie auch hyperchlorämische Azidosen (vorzufinden z.B. bei Diarrhöe, renalen tubulären Azidosen, Einnahme oder Gabe von Ammoniumchlorid, frühem Nierenversagen).

3.4.2 pH Wert im 24-h Urin

Da der Niere eine wichtige Regulationsfunktion im Säure-Basen Haushalt zukommt, wurde in Studie 2 zusätzlich der pH Wert der 24-h Urine vor dem Einfrieren gemessen. Die pH Wert-Bestimmung im 24-h Urin wurde mit Hilfe einer pH Elektrode (inoLab pH 720, WTM, Weilheim, Deutschland) durchgeführt.

3.4.3 Potentielle renale Säureladung der Diät

Aufgrund des zum Teil unvermeidlichen unterschiedlichen Einsatzes von Lebensmitteln in der Niedrig- und der Hochsalzdiät (siehe 3.1.5) sollte retrospektiv sichergestellt werden, dass die Hochsalzdiät keine höhere Säureladung aufwies, die den Effekt auf den Säure-Basen Haushalt, unabhängig von einem Kochsalzeffekt, erklären könnte. Die Säureladung der Menüpläne wurde in beiden Studien, beispielhaft an einem Probanden mit einem Gewicht nahe dem gesamten mittleren Gewicht aller Probanden, nach einer Formel von Remer und Manz (Remer und Manz 1995) berechnet. Basis dieses sogenannten PRAL (Potential renal acid load) Modells

bilden die Ausscheidungsraten von Kationen und Anionen im Urin, die aufgrund des Prinzips der Elektroneutralität identisch sein müssen (Kalhoff und Manz 2001). Um dieses Prinzip zu wahren, müssen bei der Exkretion von mehr nicht-metabolisierten Anionen als Kationen zusätzlich H^+ -Ionen ausgeschieden werden. Die Exkretion aller Ionen im Urin, mit Ausnahme der organischen Säureanionen, wird im PRAL Modell über die Nahrung anhand der zugeführten Säure- und Basenvorläufer (Remer 2000) bestimmt. Ein Maß für die Basenzufuhr sind die Mineralstoffe Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium. Die Säurebelastung wird durch den Gehalt von Phosphat, Chlorid, Sulfat und den in Protein enthaltenen Schwefel charakterisiert. Das Modell berücksichtigt dabei durchschnittliche intestinale Absorptionsraten für die Elektrolyte und den Dissoziationsgrad von Phosphat bei pH 7,4 (normaler Blut pH Wert). Die Sulfatausscheidung wird anhand der Gesamtproteinaufnahme abgeschätzt. Daraus ergibt sich folgende Berechnungsformel:

PRAL (mEq/d) =

$$(0,0268 \times \text{Chlorid (mg/d)} + 0,0366 \times \text{Phosphat (mg/d)} + 0,488 \times 10^{-3} \times \text{Protein (g/d)}) \\ - (0,0413 \times \text{Natrium (mg/d)} + 0,0205 \times \text{Kalium (mg/d)} + 0,0263 \times \text{Magnesium (mg/d)} \\ + 0,0155 \text{ (Studie 1)} \ 0,012 \text{ (Studie 2)} \times \text{Calcium (mg/d)})$$

Im Modell für Studie 2 wurden veränderte Absorptionsraten für Calcium während der Kopftieflage berücksichtigt. Bei stabilen Isotopenmessungen, welche unter fast identischen Bedingungen stattfanden, haben LeBlanc et al. (LeBlanc et al. 1995) eine Absorptionsrate von 24% in Kopftieflage sowie eine Absorptionsrate von 31% bei aufrechter Körperposition gemessen. Diese Absorptionsraten liegen der Berechnung des gewählten Umrechnungskoeffizienten für Calcium 0,0155 bei aufrechter Körperposition bzw. 0,012 während Kopftieflage in oben aufgeführter Formel zugrunde. Basisch wirkende Lebensmittel weisen einen negativen PRAL Wert auf, säurebildende Lebensmittel einen positiven.

3.5 Statistik

Die Darstellung der ermittelten Daten erfolgt als Mittelwerte (MW) \pm Standardabweichung (SD). Die statistische Auswertung der Studien erfolgte mit der

Software STATISTICA (StatSoft 2005) (Studie 1) und SAS (9.1 SAS Institute Inc, Cary, NC, USA). Als Signifikanzschranke wurde $p < 0,05$ verwendet. Lag der p-Wert unterhalb des Signifikanzniveaus von $p = 0,001$ wird nicht der exakte p-Wert, sondern $p < 0,001$ angegeben. Alle p-Werte mit $p > 0,001$ werden als tatsächliche Werte angeführt.

Studie 1: Die Mittelwerte der einzelnen Studienphasen (Phase 1 bis 4) und Probanden wurden mittels einer ANOVA (repeated measure design, STATISTICA) miteinander verglichen. Ergab sich insgesamt ein signifikanter Unterschied zwischen den Studienphasen, erfolgte eine Nachtestung mit Hilfe des Tukey Tests, der die Unterschiede der einzelnen Phasen untereinander aufzeigte. Die ermittelten Daten wurden zuvor mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung untersucht.

Studie 2: Voraussetzung für die statistische Auswertung der Unterschiede in der Interventionsphase aufgrund niedriger und hoher Kochsalzzufuhr war ein gleiches Ausgangsniveau aller Probanden am Ende der Adaptationsphase. Dies wurde mit einem t-Test für abhängige Variablen am Studientag 4 bei allen im Ergebnisteil dargestellten Parametern bestätigt. Die statistische Auswertung der Interventionsphase erfolgte mittels eines gemischten linearen Regressionsmodells unter Berücksichtigung der Korrelationsstruktur zwischen den wiederholten Messungen an einem Probanden. Dabei wurden die Daten auf Unterschiede im zeitlichen Verlauf (time), in der Behandlungsart (hohe versus niedrige Kochsalzzufuhr) (treatment) und im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Behandlungsart (time x treatment) untersucht. Im Rahmen dieser Arbeit wurden vornehmlich die Unterschiede in der Behandlungsart, also die „treatment-Effekte“ betrachtet. Zusätzlich wurden die Daten auf Unterschiede zwischen den beiden Experimentteilen, die im September 2005 und März 2006 stattfanden, getestet, um z.B. jahreszeitliche Effekte oder Überhangeffekte auszuschließen. Die Kalkulationen wurden mit dem dem SAS Procedure Mixed (PROC MIXED) durchgeführt.

Bei ausgewählten Parametern wurden Einzelwerte mit Hilfe eines t-Tests verglichen.

4 Ergebnisse

4.1 Parameter des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes

4.1.1 Serumelektrolytkonzentrationen (Natrium, Kalium, Chlorid)

In Tabelle 7 A/B sind die Serumelektrolytkonzentrationen in den unterschiedlichen Kochsalzphasen dargestellt. Die analysierten Serumelektrolytkonzentrationen lagen, mit Ausnahme der Serumnatriumkonzentration in Phase 3 bei Studie 1, in beiden Studien innerhalb ihres Normbereiches, definiert von Hogan und Wane 2003 und Morlion 1999 (Natrium: 135 - 145 mmol/L; Kalium: 3,0 - 5,0 mmol/l; Chlorid: 95 - 108 mmol) (Hogan und Wane 2003; Morlion 1999). Die statistische Auswertung (ANOVA Studie 1, PROC MIXED Studie 2) der Serumnatriumkonzentration zeigte nur in Studie 1 signifikante Unterschiede zwischen den Studienphasen ($p = 0,037$). Die Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) ergab, dass dieser Unterschied nur zwischen Studienphase 1 und 3 bestand ($p = 0,026$). Die Serumnatriumkonzentration lag bei sehr hoher Kochsalzzufuhr (Phase 3) mit einem Wert von im Mittel $147,3 \pm 2,7$ mmol/L außerhalb des Normbereiches. In Studie 2 hingegen blieb die Serumnatriumkonzentration während HDTBR sowohl bei niedriger als auch bei hoher Kochsalzzufuhr konstant ($p = 0,63$) und lag innerhalb des Normbereiches.

Die Serumkaliumkonzentration blieb in Studie 1 während der gesamten Studiendauer konstant ($p = 0,187$). In Studie 2 ergab sich während HDTBR ein signifikanter Unterschied zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr (PROC MIXED: $p = 0,011$), der sich in Form einer niedrigeren Serumkaliumkonzentration bei hoher Kochsalzzufuhr äußerte.

Die Serumchloridkonzentration war in beiden Studien bei hoher Kochsalzzufuhr signifikant erhöht (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$, PROC MIXED Studie 2: $p < 0,001$). Die Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) in Studie 1 ergab, dass die Chloridkonzentration im Serum nur von Phase 1 zu Phase 2 ($p < 0,001$), aber nicht weiter von Phase 2 zu Phase 3 ($p = 0,10$) anstieg. Nach Reduktion der Kochsalzzufuhr von Phase 3 zu Phase 4 kam es dann wieder zu einer signifikanten Erniedrigung der Chloridkonzentration im Serum ($p < 0,001$).

4.1.2 Aldosteron-, Renin- und AVP-Konzentration im Serum

Tabelle 7 A/B zeigt die Aldosteron-, Renin- und AVP- Konzentration im Serum in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr. Wie erwartet, war ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Höhe der Kochsalzzufuhr und der Aldosteron- sowie der Reninkonzentration in beiden Studien festzustellen. Die statistische Auswertung (ANOVA Studie 1, PROC MIXED Studie 2) zeigte eine signifikante Erniedrigung der Aldosteron- und Reninkonzentration bei hoher Kochsalzzufuhr (in beiden Studien beide Parameter $p < 0,001$) sowie eine signifikante Erhöhung bei niedriger Kochsalzzufuhr (in beiden Studien beide Parameter $p < 0,001$). Es konnte jedoch keine dosisabhängige Reduktion der Aldosteron- und Reninkonzentration nachgewiesen werden, d.h. bei einer Zufuhr von 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag in Studie 1 wurden die Hormone nicht signifikant stärker supprimiert als bei einer Zufuhr von 2,8 mmol NaCl/kgKG/Tag (ANOVA, Tukey Test: $p = 0,55$). AVP zeigte in Studie 1 eine leichte Reduktion bei steigender Kochsalzzufuhr, während in Studie 2 in Immobilisation und hoher Kochsalzzufuhr eine leicht höhere AVP-Konzentration als bei niedriger Kochsalzzufuhr zu beobachten war. (ANOVA: $p = 0,04$; PROC MIXED: $p = 0,04$).

Tabelle 7A/B: Serumkonzentrationen (Natrium, Kalium, Chlorid, Aldosteron, Renin, AVP) in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der 9 Probanden pro Studienphase und in B die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden des angegebenen Studientages

A

Parameter im Serum	0,7 mmol NaCl/kgKG/d	2,8 mEq NaCl/kgKG/d	7,7 mmol NaCl/kgKG/d	0,7 mmol NaCl/kgKG/d	p-Wert (ANOVA)
Natrium (mmol/L)	144,7 \pm 3,9	146,0 \pm 4,0	147,3 \pm 2,7	145,4 \pm 2,7	p = 0,037
Kalium (mmol/L)	4,35 \pm 0,42	4,21 \pm 0,35	4,16 \pm 0,29	4,29 \pm 0,16	p = 0,187 (ns)
Chlorid (mmol/L)	95,4 \pm 2,2	100,1 \pm 2,1	101,3 \pm 2,0	96,9 \pm 1,3	p < 0,001
Aldosteron (pg/ml)	945,17 \pm 353,01	254,20 \pm 81,07	138,25 \pm 42,82	798,16 \pm 299,49	p < 0,001
Renin (mU/ml)	101,31 \pm 32,67	25,84 \pm 6,88	16,60 \pm 6,09	93,66 \pm 42,09	p < 0,001
AVP (pg/ml)	1,02 \pm 0,40	0,61 \pm 0,17	0,94 \pm 0,31	0,76 \pm 0,25	p = 0,04

p: Unterschied zwischen allen Studienphasen

ns = nicht signifikant

B

	Adaptation	Intervention						Erholung
		Tag 6	Tag 9	Tag 11	Tag 14	Tag 16	Tag 18	
Natrium im Serum (mmol/L) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	140,0 ± 2,7	141,1 ± 3,3	140,5 ± 3,9	139,6 ± 3,6	140,2 ± 3,4	140,3 ± 2,7	140,3 ± 2,9	140,9 ± 2,3
7,7mmol NaCl/kgKG/d	139,1 ± 2,4	141,2 ± 2,3	140,2 ± 2,1	139,7 ± 2,2	140,0 ± 2,6	140,0 ± 1,9	139,5 ± 2,5	139,7 ± 2,6
p	p = 0,63 (ns)							
Kalium im Serum (mmol/L) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	4,12 ± 0,14	4,16 ± 0,25	4,04 ± 0,12	4,04 ± 0,10	4,12 ± 0,17	4,19 ± 0,21	4,01 ± 0,08	4,01 ± 0,24
7,7mmol NaCl/kgKG/d	4,05 ± 0,12	4,00 ± 0,11	3,95 ± 0,07	3,95 ± 0,14	4,05 ± 0,21	4,06 ± 0,16	4,01 ± 0,14	3,96 ± 0,15
p	p = 0,011							
Chlorid im Serum (mmol/L) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	101,4 ± 2,4	100,4 ± 3,0	98,1 ± 3,0	99,8 ± 2,8	100,1 ± 3,2	101,2 ± 2,4	100,1 ± 2,6	102,8 ± 2,8
7,7mmol NaCl/kgKG/d	101,8 ± 2,4	105,0 ± 2,6	103,8 ± 2,5	102,8 ± 2,8	102,1 ± 2,7	103,8 ± 2,38	102,8 ± 2,4	99,7 ± 2,4
p	p < 0,001							
Aldosteron im Serum (pg/ml) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	181,42 ± 70,14	234,71 ± 52,55	769,88 ± 154,70	559,63 ± 168,16	465,05 ± 156,07	519,27 ± 159,35	518,96 ± 115,99	247,41 ± 169,38
7,7mmol NaCl/kgKG/d	146,62 ± 31,96	100,45 ± 31,74	74,14 ± 14,13	80,07 ± 12,66	88,42 ± 15,53	87,04 ± 18,89	90,76 ± 14,83	201,23 ± 60,11
p	p < 0,001							
Renin im Serum (pg/ml) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	19,8 ± 11,1	28,81 ± 19,15	30,40 ± 15,31	59,34 ± 18,72	50,55 ± 14,68	44,92 ± 15,97	43,30 ± 15,41	53,9 ± 23,1
7,7mmol NaCl/kgKG/d	16,2 ± 9,3	22,36 ± 12,89	8,38 ± 6,57	7,09 ± 3,45	8,16 ± 3,47	10,10 ± 6,09	9,27 ± 5,18	16,5 ± 8,0
p	p < 0,001							
AVP im Serum (pg/ml) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	0,80 ± 0,40	1,25 ± 1,02	1,05 ± 0,82	0,97 ± 0,51	Keine Messung	1,05 ± 0,63	0,70 ± 0,37	0,53 ± 0,28
7,7mmol NaCl/kgKG/d	0,80 ± 0,57	1,99 ± 0,52	1,51 ± 0,93	0,97 ± 0,36	Keine Messung	1,61 ± 0,42	1,61 ± 0,85	0,75 ± 0,48
p	p = 0,04							

p: Unterschiede zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr, ns = nicht signifikant

4.1.3 Natriumausscheidung über Urin und Fäzes

In Abbildung 6 A/B ist die renale Natriumexkretion, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr, dargestellt. In beiden Studien adaptierte sich die renale Natriumexkretion an die jeweilige Kochsalzzufuhr und es ergaben sich, wie erwartet, dosisabhängige signifikante Unterschiede (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p < 0,001$).

Studie 1: Die statistische Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) zeigte eine signifikante Erhöhung der renalen Natriumexkretion mit steigender Kochsalzzufuhr ($p < 0,001$) von 64 ± 13 mmol/Tag (Phase 1) auf 166 ± 8 mmol/Tag (Phase 2) ($p < 0,001$) bis zu 521 ± 23 mmol/L/Tag (Phase 3) ($p < 0,001$). Nach Reduktion der Kochsalzzufuhr in Phase 4 kam es, wie auch in Phase 1, zu einer signifikant reduzierten renalen Natriumexkretion von im Mittel 72 ± 15 mmol/Tag ($p < 0,001$) (Abbildung 6 A).

Studie 2: Die statistische Auswertung (PROC MIXED) zeigte auch in HDTBR einen signifikanten Kochsalzeffekt in der Interventionsphase ($p < 0,001$), wobei die renale Natriumexkretion im Mittel bei hoher Kochsalzzufuhr bei 527 ± 169 mmol/Tag und bei niedriger Kochsalzzufuhr bei 55 ± 16 mmol/Tag lag. Am letzten Tag der Adaptationsphase hatten beide Gruppen eine nahezu identische renale Natriumexkretion (t-Test an Tag 4: $p = 0,67$). (Abbildung 6 B).

Die Ausscheidung über die Fäzes, die nur in Studie 2 aufgrund möglicher veränderter Absorptionsraten während der Kopftieflage bestimmt wurde, zeigte eine Abhängigkeit der Natriumausscheidung über die Fäzes mit der Kochsalzzufuhr (PROC MIXED: $p = 0,0013$). Bei niedriger Kochsalzzufuhr betrug die Natriumausscheidung $1,24 \pm 0,64$ mmol/Tag, während sie bei hoher Kochsalzzufuhr bei $3,45 \pm 1,53$ mmol/Tag lag. Wegen des geringen absoluten Verlustes von Natrium über die Fäzes ist sie für die Gesamtnatriumbilanz jedoch von sehr geringer Bedeutung. Unter Einbeziehung der Natriumzufuhr ergab sich mit 98,0% - 99,4 % im Vergleich zur Lehrbuchaussage, die besagt, dass Natrium fast vollständig absorbiert wird (Elmadfa and Leitzmann 1998), keine veränderte Absorptionsrate für Natrium bedingt durch HDTBR.

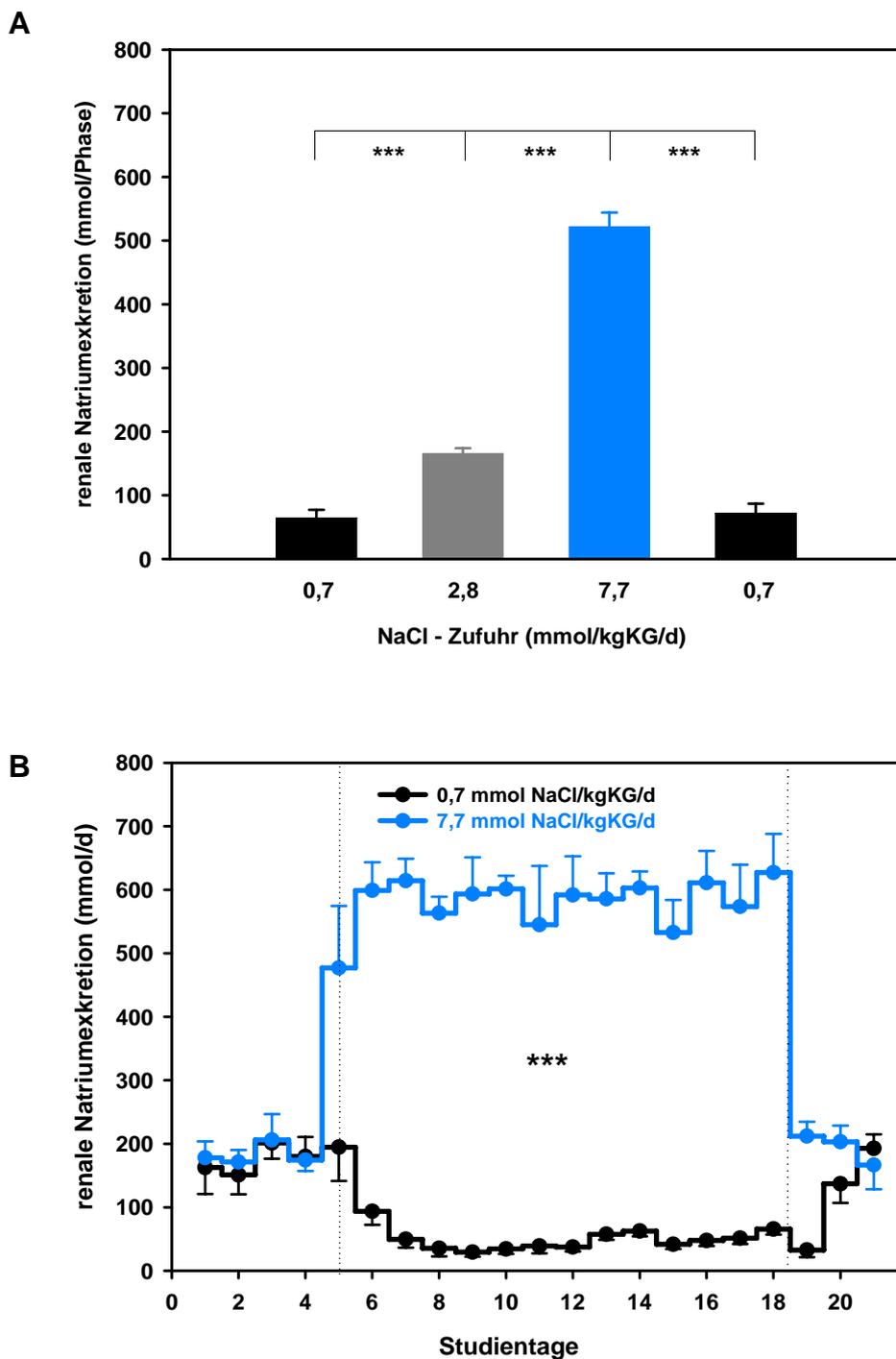


Abbildung 6 A/B: Renale Natriumexkretion bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der 9 Probanden pro Studienphase und in B (Studie 2) die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden pro Studientag. A: ANOVA: Unterschied zwischen allen Phasen: $p < 0,001$ (Nachtestung: $***p < 0,001$); B: PROC MIXED: Unterschied zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase: $***p < 0,001$.

4.1.4 Natriumbilanz

Die unterschiedliche Kochsalzzufuhr führte in beiden Studien zu signifikanten Unterschieden in der Natriumbilanz (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p < 0,001$).

Studie 1: Die statistische Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) zeigte im zeitlichen Verlauf einen signifikanten Unterschied zwischen Studienphase 1 und 2 ($p < 0,001$) und zwischen Phase 3 und 4 ($p < 0,001$). Die Natriumbilanz in Phase 2 war nicht signifikant unterschiedlich zur Natriumbilanz in Phase 3 ($p = 0,88$).

Abbildung 7 A zeigt die 24-h Bilanzen, summiert über die Untersuchungstage pro Studien- und damit pro Kochsalzphase (kumulative Natriumbilanz pro Phase). In der ersten 6-tägigen Niedrigsalzphase (Phase 1) verloren die Probanden eine Natriummenge von 86 ± 70 mmol (negative kumulative Bilanz), in der darauffolgenden 6-tägigen Phase mit einer durchschnittlich normalen Kochsalzzufuhr von $2,8$ mmol NaCl/kgKG/Tag lagerten sie insgesamt eine Natriummenge von 206 ± 62 mmol ein (positive kumulative Bilanz). Auch in der sich anschließenden Phase mit sehr hoher Kochsalzzufuhr lagerten die Probanden zusätzlich Natrium in einer Höhe von 290 ± 226 mmol ein. Die hohe Standardabweichung in der 10-tägigen Hochsalzphase ergibt sich aus den unterschiedlichen Reaktionen der einzelnen Probanden. 8 Probanden lagerten Natrium in Mengen von $60 - 748$ mmol ein, während ein Proband mit -18 mmol sogar eine negative Bilanz bei hoher Kochsalzzufuhr aufwies (siehe Tabelle 8 A). Nach Reduktion der Kochsalzzufuhr in Phase 4 zeigten die Probanden eine negative kumulative Natriumbilanz von -129 ± 96 mmol, dabei konnte die zuvor eingelagerte Natriummenge aus Phase 2 und 3 jedoch nicht wieder vollständig ausgeglichen werden.

Studie 2: Die statistische Auswertung (PROC MIXED) zeigte auch bei immobilisierten Probanden einen signifikanten Unterschied in der Natriumbilanz zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr ($p < 0,001$).

Abbildung 7 B zeigt die kumulative Natriumbilanz der 14-tägigen Interventionsphase bei niedriger und bei hoher Kochsalzzufuhr. Probanden mit niedriger Kochsalzzufuhr haben Natrium verloren (negative kumulative Natriumbilanz von -95 ± 60 mmol),

während die Probanden bei hoher Kochsalzzufuhr Natrium einlagerten (positive Natriumbilanz von 335 ± 266 mmol). Auffällig ist wiederum die hohe Standardabweichung bei hoher Kochsalzzufuhr, die auch hier durch individuelle Reaktionen der Probanden mit sehr unterschiedlichen Einlagerungsmengen von 208 mmol bis 658 mmol bedingt war. Ein Proband lagerte wie, auch in Studie 1, bei hoher Kochsalzzufuhr mit einer negativen Bilanz von -196 mmol kein Natrium ein (siehe Tabelle 8 A/B).

Tabelle 8 A/B: Natriumspeicherung der einzelnen Probanden bei hoher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Einzelwerte der kumulierten Natriumbilanz der Phase 3 und in B (Studie 2) die Einzelwerte der kumulierten Natriumbilanz der Interventionsphase mit hoher Kochsalzzufuhr.

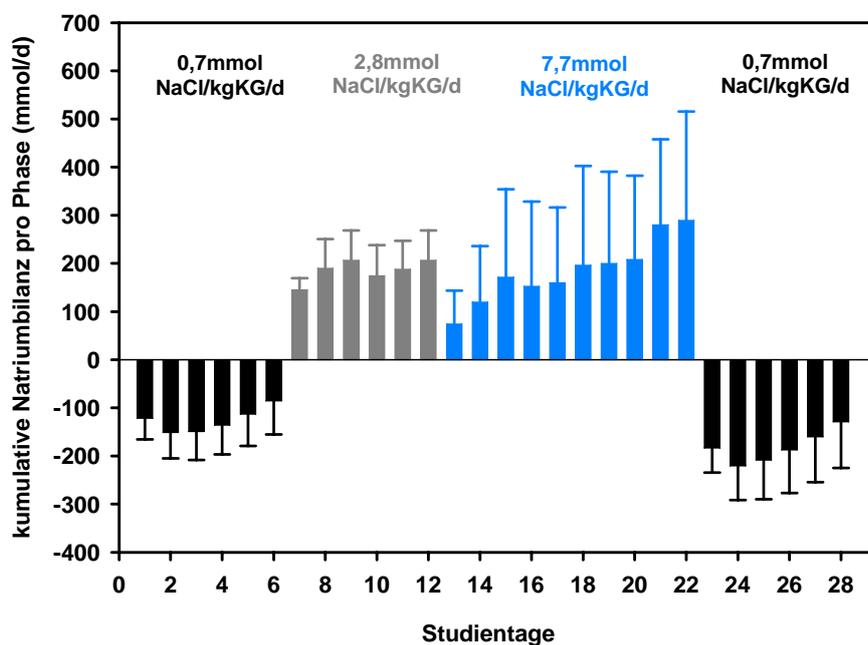
A

Probanden	kumulierte Natriumbilanz der Phase 3 (in mmol)
A	375
B	-18
C	135
D	226
E	376
F	377
G	328
H	748
K	60

B

Probanden	kumulierte Natriumbilanz der Interventionsphase (in mmol)
A	-196
B	574
C	226
D	335
E	419
F	208
G	658
H	461

A



B

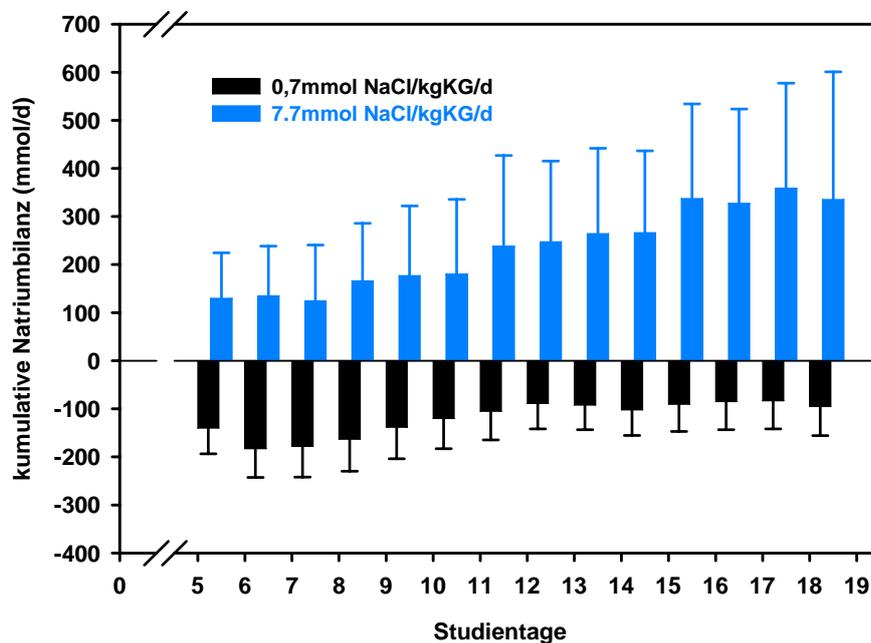


Abbildung 7 A/B: Kumulative Natriumbilanz bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der täglichen Natriumbilanzen, aufsummiert über die Tage der jeweiligen Studienphase. Der letzte Balken der jeweiligen Studienphase stellt dabei den Gesamtwert der kumulativen Bilanz der Phase dar. In B (Studie 2) sind die Mittelwerte \pm SD der täglichen Natriumbilanzen, aufsummiert über die Tage der Interventionsphase, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr, aufgetragen. Der jeweilige letzte Balken stellt somit den Gesamtwert der kumulativen Bilanz der Hoch- bzw. Niedersalzphase dar.

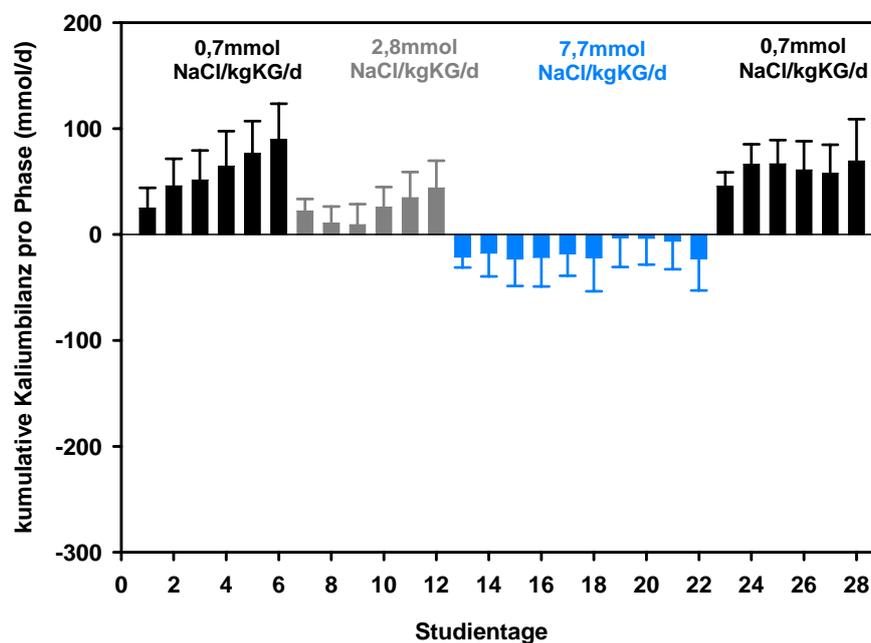
4.1.5 Kaliumbilanz

Die Kaliumbilanz veränderte sich signifikant in beiden Studien, in Abhängigkeit von der Höhe der Kochsalzzufuhr (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p = 0,0175$).

Studie 1: Die statistische Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) der Kaliumbilanz zeigte sowohl von Phase 1 zu Phase 2 ($p = 0,015$), von Phase 2 zu Phase 3 ($p = 0,002$) als auch von Phase 3 zu Phase 4 ($p < 0,001$) signifikante Veränderungen. Abbildung 8 A zeigt die 24-h Bilanzen, summiert über die Untersuchungstage pro Kochsalzphase (kumulative Kaliumbilanz pro Phase). Die anfänglich positive kumulative Kaliumbilanz bei niedriger Kochsalzzufuhr von 90 ± 34 mmol sank in Phase 2 auf 44 ± 26 mmol und konnte in Phase 3 bei sehr hoher Kochsalzzufuhr nicht aufrecht erhalten werden. Phase 3 zeigte eine negative kumulative Kaliumbilanz von -23 ± 30 mmol über die 10 Tage mit hoher Kochsalzzufuhr. In Phase 4 konnte dann wieder eine positive kumulative Bilanz von 69 ± 40 mmol erreicht werden.

Studie 2: Die statistische Analyse (PROC MIXED) zeigte während HDTBR einen signifikanten Unterschied in der Kaliumbilanz zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr ($p = 0,0175$). In Abbildung 8 B ist die kumulative Kaliumbilanz über den Zeitraum der Interventionsphase, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr, dargestellt. Bei hoher als auch bei niedriger Kochsalzzufuhr kam es während der Kopftieflage zu einer negativen kumulativen Kaliumbilanz (Niedrigsalz: -32 ± 57 mmol, Hochsalz: -206 ± 34 mmol); die Bilanz bei hoher Kochsalzzufuhr war jedoch deutlich negativer. Diese deutlich negativere Bilanz war hauptsächlich auf die gestiegene renale Kaliumexkretion am Anfang der HDTBR zurückzuführen, wie aus Abbildung 9 ersichtlich wird. Ein t-Test zeigte, dass der signifikante Unterschied zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr (PROC MIXED: $p = 0,02$) hauptsächlich durch die unterschiedliche Exkretion in den ersten 3 Kopftieflage-Tagen zu erklären war.

A



B

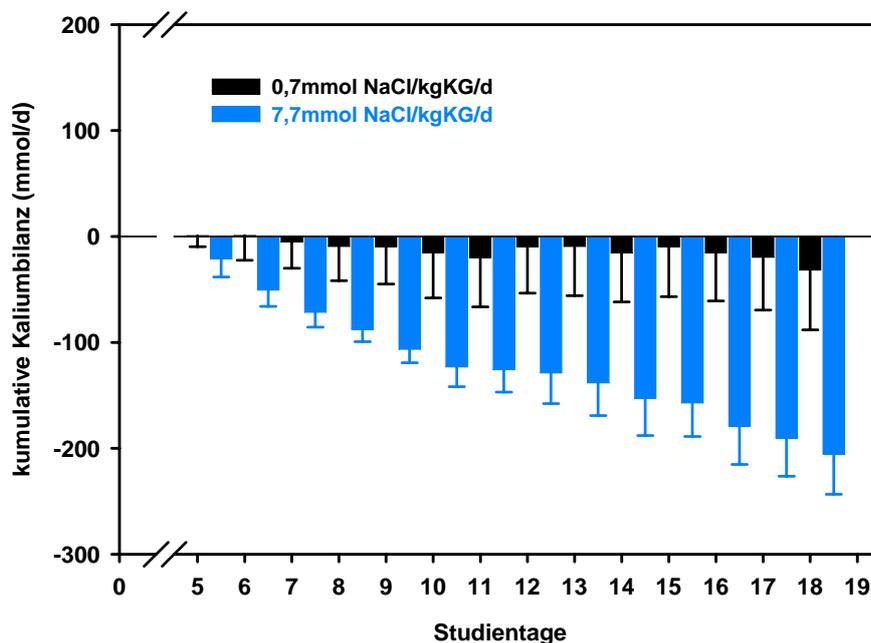


Abbildung 8 A/B: Kumulative Kaliumbilanz bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der täglichen Kaliumbilanzen, aufsummiert über die Tage der jeweiligen Studienphase. Der letzte Balken der jeweiligen Studienphase stellt dabei den Gesamtwert der kumulativen Bilanz der Phase dar. In B (Studie 2) sind die Mittelwerte \pm SD der täglichen Kaliumbilanzen, aufsummiert über die Tage der Interventionsphase, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr, aufgetragen. Der jeweilige letzte Balken stellt somit den Gesamtwert der kumulativen Bilanz der Hoch- bzw. Niedrigsalzphase dar.

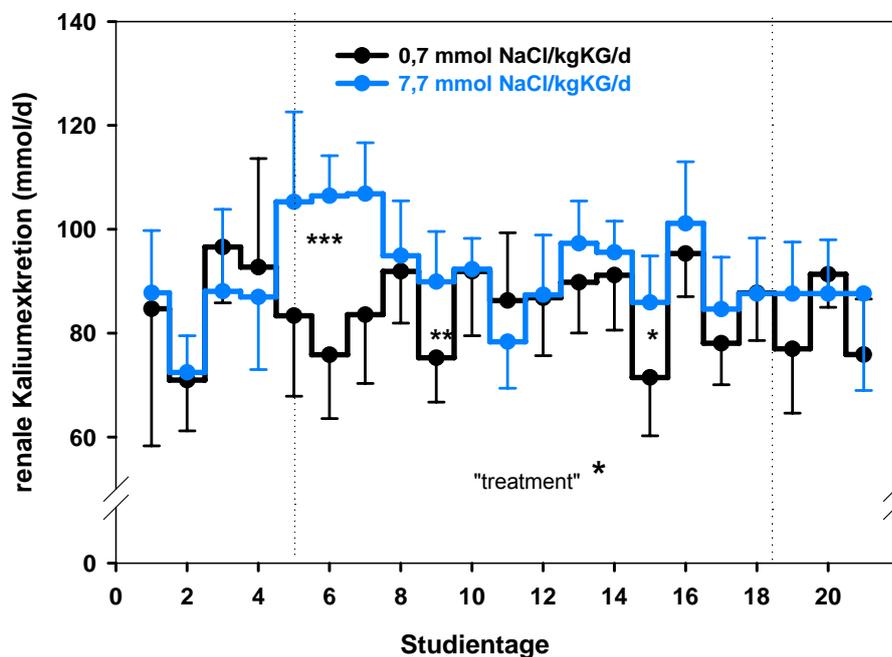


Abbildung 9: Renale Kaliumexkretion bei hoher und niedriger Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden pro Studientag. PROC MIXED: Unterschied zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase ($***p = 0,02$), t-Test: Unterschied an einzelnen Tagen zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase ($***p < 0,001$; $**p < 0,01$; $*p < 0,05$).

4.1.6 Wasserbilanz

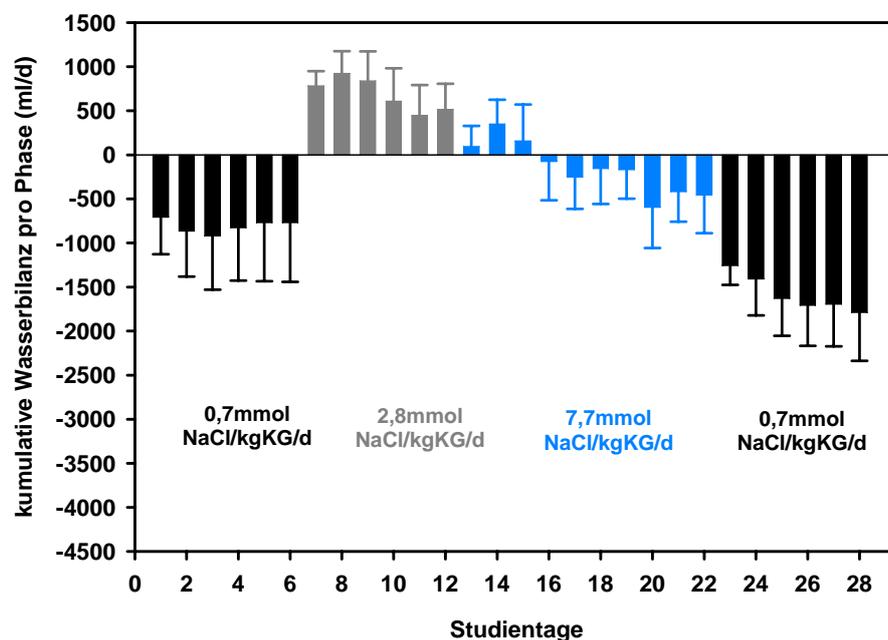
Die Wasserbilanz zeigte, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr, in beiden Studien signifikante Unterschiede (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p = 0,0013$).

Studie 1: Die statistische Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) zeigte signifikante Unterschiede zwischen allen Studien- bzw. Kochsalzzufuhrphasen (zwischen Phase 1 und 2: $p < 0,001$; zwischen Phase 2 und 3: $p < 0,001$ und zwischen Phase 3 und 4: $p < 0,001$). In Abbildung 10 A ist die kumulative Bilanz der einzelnen Studienphasen dargestellt. Bei niedriger Kochsalzzufuhr war die Wasserausscheidung größer als die Wasserzufuhr und es ergab sich somit eine negative kumulative Wasserbilanz von -768 ± 672 ml in Studienphase 1. In Studienphase 2 mit einer normalen durchschnittlichen Kochsalzzufuhr war die Wasserausscheidung geringer als die Wasserzufuhr, was zu einer positiven kumulativen Bilanz in Höhe von 515 ± 292 ml

fürte. Bei weiter ansteigender Kochsalzzufuhr in Phase 3 kam es nicht, wie erwartet, zu einer positiven Bilanz, sondern es zeigte sich ein kumulativer Wasserverlust von insgesamt 455 ± 435 ml. In Phase 4 kam es, wie auch in Phase 1, mit der gleichen Kochsalzzufuhrmenge zu einer negativen kumulativen Wasserbilanz von -1789 ± 549 ml.

Studie 2: Bei beiden Kochsalzzufuhrmengen und HDTBR trat insgesamt über den Zeitraum der Interventionsphase eine negative kumulative Wasserbilanz auf. Die statistische Auswertung (PROC MIXED) zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr ($p = 0,0013$), wobei der Wasserverlust bei niedriger Kochsalzzufuhr höher war als bei hoher Kochsalzzufuhr. In Abbildung 10 B ist die kumulative Wasserbilanz bei hoher und niedriger Kochsalzzufuhr dargestellt. Bei niedriger Kochsalzzufuhr und Kopftieflage verloren die Probanden über 14 Tage im Mittel 3923 ± 322 ml Wasser, während sie bei hoher Kochsalzzufuhr und Kopftieflage im Mittel nur 3143 ± 694 ml Wasser verloren.

A



B

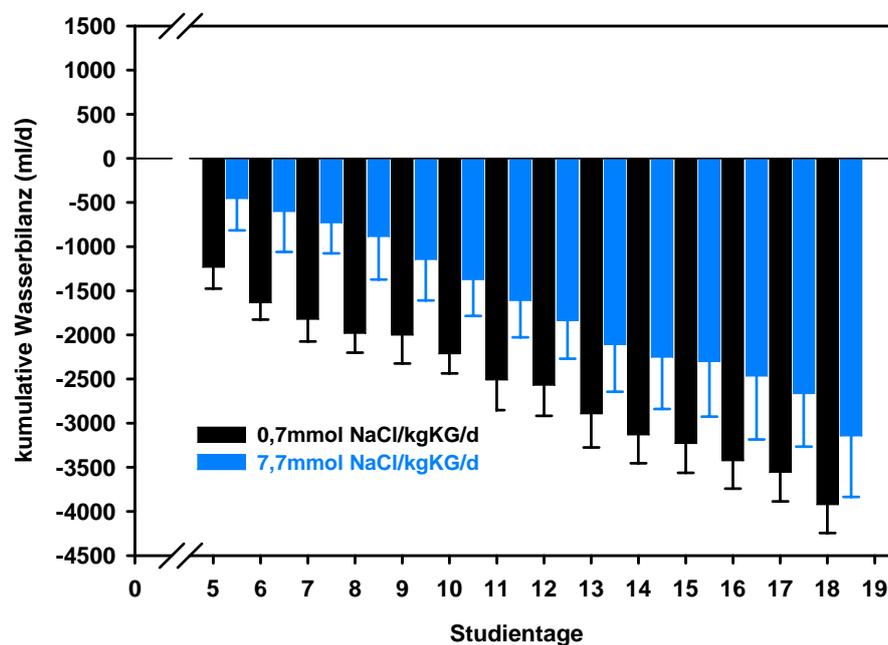


Abbildung 10 A/B: Kumulative Wasserbilanz bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der täglichen Wasserbilanzen, aufsummiert über die Tage der jeweiligen Studienphase. Der letzte Balken der jeweiligen Studienphase stellt dabei den Gesamtwert der kumulativen Bilanz der Phase dar. In B (Studie 2) sind die Mittelwerte \pm SD der täglichen Wasserbilanzen, aufsummiert über die Tage der Interventionsphase, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr, aufgetragen. Der jeweilige letzte Balken stellt somit den Gesamtwert der kumulativen Bilanz der Hoch- bzw. Niedrigsalzphase dar.

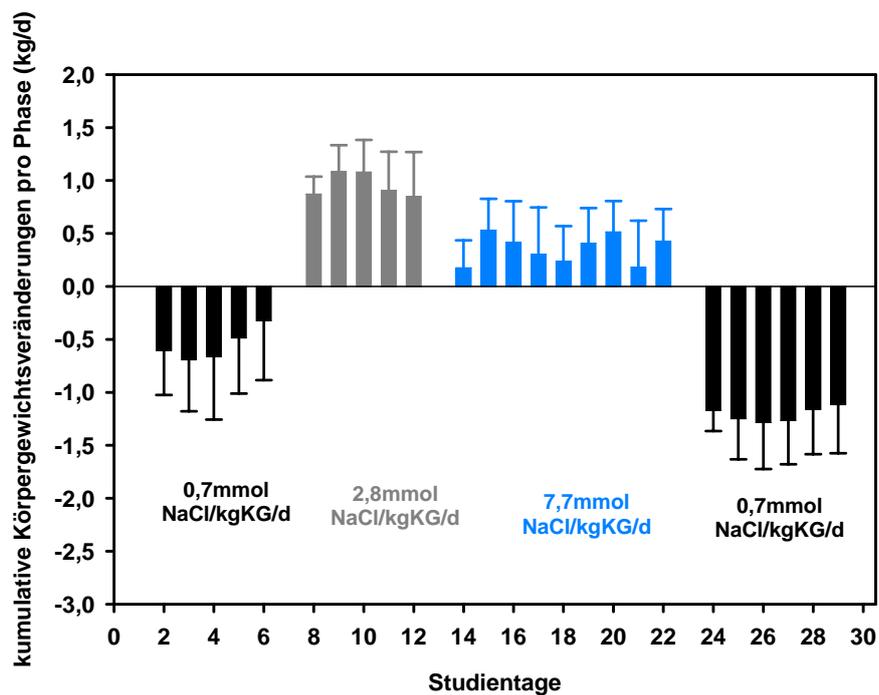
4.1.7 Körpergewicht

Die Körpergewichte der Probanden zeigten in beiden Studien kochsalzabhängige signifikante Unterschiede (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p < 0,001$). Dargestellt sind in Abbildung 11 A/B die kumulativen Körpergewichtsveränderungen pro Studienphase, ausgehend vom ersten Tag der jeweiligen Studienphase (Studie 1) bzw. ausgehend vom ersten Tag der Interventionsphase (Studie 2).

Studie 1: Die statistische Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) zeigte signifikante Unterschiede der absoluten Körpergewichte zwischen Phase 1 und Phase 2 ($p < 0,001$), zwischen Phase 3 und Phase 4 ($p < 0,001$), aber nicht zwischen Phase 2 und Phase 3 ($p = 0,076$). Anhand der kumulativen Körpergewichtsveränderungen konnte gezeigt werden, dass die Probanden während niedriger Kochsalzzufuhr sowohl in Phase 1 ($- 0,32 \pm 0,56$ kg) als auch in Phase 4 ($-1,12 \pm 0,46$ kg) Körpergewicht verloren haben. Während durchschnittlich normaler und hoher Kochsalzzufuhr in Phase 2 und 3 nahmen die Probanden an Körpergewicht zu (Phase 2: $+ 0,85 \pm 0,42$ kg; Phase 3: $+ 0,43 \pm 0,30$ kg) (Abbildung 11 A).

Studie 2: Da beide Kochsalzgruppen aufgrund der Kopftieflage an Gewicht verloren haben, trat die signifikante Veränderungen zwischen den unterschiedlichen Kochsalzzufuhrmengen nur in Kombination mit dem zeitlichen Verlauf auf (PROC MIXED, „time x treatment“: $p < 0,001$). Ausgehend vom ersten Tag der Interventionsphase (Tag 5), verloren die Probanden bei niedriger Kochsalzzufuhr während Kopftieflage $2,2 \pm 0,6$ kg, während sie bei hoher Kochsalzzufuhr während Kopftieflage nur $1,3 \pm 0,4$ kg verloren, was eine Differenz von ca. 0,9 kg ergibt (Abbildung 11 B).

A



B

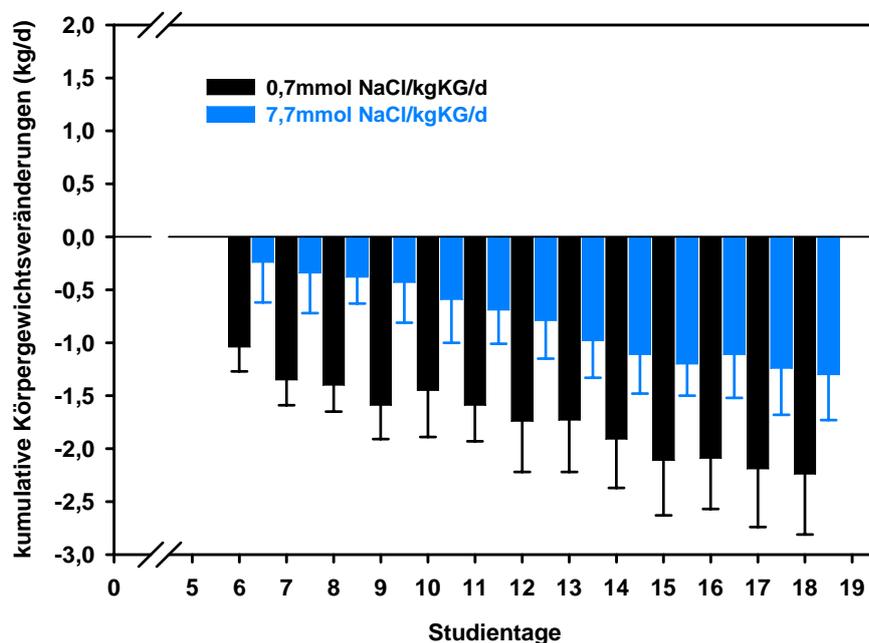


Abbildung 11 A/B: Kumulative Körpergewichtsveränderungen bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der täglichen Körpergewichtsveränderungen, aufsummiert über die Tage der jeweiligen Studienphase. Der letzte Balken der jeweiligen Studienphase stellt dabei die Gesamt-Körpergewichtsveränderung der Phase dar. In B (Studie 2) sind die Mittelwerte \pm SD der täglichen Körpergewichtsveränderungen, aufsummiert über die Tage der Interventionsphase, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr, aufgetragen. Der jeweilige letzte Balken stellt somit die Gesamt-Körpergewichtsveränderung der Hoch- bzw. Nidrigsalzphase dar.

4.2 Parameter des Calcium- und Knochenstoffwechsels

4.2.1 Serumcalciumkonzentration

In Tabelle 9 A/B ist die Serumcalciumkonzentration in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr dargestellt. Die Serumcalciumkonzentration lag in beiden Studien innerhalb des Normbereiches von 2,2 - 2,6 mmol/L (Biesalski und Grimm 2002) und zeigte nur in Studie 1 signifikante Unterschiede zwischen den Studienphasen (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p = 0,064$).

Studie 1: Anhand der statistischen Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) konnte gezeigt werden, dass die Serumcalciumkonzentration von Phase 1 zu Phase 2 ($p < 0,001$) sank. Eine weitere Erhöhung der Kochsalzzufuhr in Phase 3 bewirkte keine weitere Reduktion der Serumcalciumkonzentration (ANOVA, $p = 0,98$). Eine Reduktion der Kochsalzzufuhr in Phase 4 führte wieder zu einer Anhebung der Serumcalciumkonzentration ($p < 0,001$) (Tabelle 9 A).

Studie 2: Die statistische Auswertung zeigte keinen signifikanten Unterschied in der Serumcalciumkonzentration zwischen niedriger und hoher Kochsalzzufuhr während HDTBR (PROC MIXED: $p = 0,064$) (Tabelle 9 B).

4.2.2 Serum-PTH-Konzentration

Tabelle 9 A/B zeigt die Serum-PTH-Konzentration bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr. In Studie 1 konnte insgesamt ein signifikanter Unterschied festgestellt werden (ANOVA, $p = 0,02$), während es in Studie 2 zu keinem signifikanten Unterschied zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr kam ($p = 0,55$).

Studie 1: Bei der statistischen Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Serum-PTH-Konzentration im Nüchternblut nur zwischen Phase 2 und Phase 4 ($p = 0,02$). Ein direkter Anstieg der PTH-Konzentration von niedriger zu hoher Kochsalzzufuhr konnte jedoch nicht nachgewiesen werden (Tabelle 9 A).

Studie 2: PTH zeigte nach statistischer Auswertung keine kochsalzbedingte Veränderung in Kopftieflage ($p = 0,55$) (Tabelle 9 B).

4.2.3 Knochenformationsmarker (PINP, bAP, Ocal)

Die Veränderungen der Knochenformationsmarker sind in Tabelle 9 A/B dargestellt. Da in Studie 1 die Plasmavolumina in Phase 2 ($4167,44 \pm 539,81$ ml) und Phase 3 ($4392,37 \pm 910,07$ ml) im Vergleich zu Phase 1 ($3613,89 \pm 471,4$ ml) und 4 ($3534,19 \pm 432,79$ ml) signifikant erhöht waren (ANOVA, Tukey Test Phase 1/4 zu 2: $p = 0,035/0,014$; Phase 1/4 zu 3: $p = 0,002/ < 0,001$), wurde die Konzentration der Knochenformationsmarker in Studie 1 auf das Plasmavolumen bezogen und somit als Gesamtmenge dargestellt (Tabelle 9 A). Es bestand kein signifikanter Unterschied im Plasmavolumen zwischen Phase 2 und 3 (ANOVA, Tukey Test: $p = 0,64$). In Studie 2 konnte keine Plasmavolumenerhöhung festgestellt werden (PROC MIXED: $p = 0,42$), so dass die Werte in Tabelle 9 B als Konzentrationsangabe angegeben sind.

Studie 1: Der Knochenaufbaumarker bAP zeigte keine signifikante Veränderung zwischen den einzelnen Studienphasen (ANOVA: $p = 0,379$). PINP und Osteocalcin wiesen signifikante Unterschiede zwischen den Studienphasen auf (ANOVA PINP: $p = 0,016$; Ocal: $p = 0,004$), zeigten aber nach statistischer Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) nur eine signifikante Reduktion von Phase 3 auf Phase 4 (PINP: $p = 0,043$; Ocal: $p = 0,009$).

Studie 2: Alle gemessenen Knochenaufbaumarker (PINP, bAP, Ocal) zeigten in der statistischen Auswertung keinen signifikanten Unterschied zwischen niedriger und hoher Kochsalzzufuhr während Kopftieflage (PINP: $p = 0,50$; bAP: $p = 0,74$; Ocal: $p = 0,32$).

Tabelle 9 A/B: Serumcalciumkonzentration, Serum-PTH-Konzentration, Knochenformationsmarker bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der 9 Probanden pro Studienphase und in Abbildung B (Studie 2) die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden des angegebenen Studientages.

A

Parameter im Serum	0,7 mmol NaCl/kgKG/d	2,8 mmol NaCl/kgKG/d	7,7 mmol NaCl/kgKG/d	0,7 mmol NaCl/kgKG/d	p-Wert (ANOVA)
Calcium (mmol/L)	2,46 \pm 0,05	2,39 \pm 0,05	2,40 \pm 0,05	2,49 \pm 0,05	p < 0,001
PTH (pg/ml)	20,90 \pm 5,11	20,39 \pm 5,12	18,55 \pm 6,16	17,24 \pm 4,79	p = 0,016
bAP (μ g)	48,62 \pm 11,35	51,05 \pm 11,00	52,81 \pm 17,35	48,05 \pm 12,42	p = 0,379 (ns)
Ocal (ng)	64,58 \pm 27,00	64,71 \pm 24,68	65,51 \pm 31,78	52,41 \pm 23,93	p = 0,004
PINP (μ g)	243,23 \pm 92,45	233,48 \pm 85,90	238,07 \pm 59,34	196,78 \pm 60,69	p = 0,016

p: Unterschied zwischen allen Studienphasen

ns = nicht signifikant

B

	Adaptation	Intervention						Erholung
		Tag 6	Tag 9	Tag 11	Tag 14	Tag 16	Tag 18	
Calcium im Serum (mmol/L) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	2,33 ± 0,06	2,40 ± 0,05	2,41 ± 0,05	2,38 ± 0,08	2,38 ± 0,09	2,40 ± 0,06	2,39 ± 0,07	2,31 ± 0,06
7,7mmol NaCl/kgKG/d	2,32 ± 0,05	2,32 ± 0,06	2,34 ± 0,06	2,34 ± 0,06	2,37 ± 0,08	2,34 ± 0,06	2,34 ± 0,06	2,38 ± 0,05
p		p = 0,064 (ns)						
PTH im Plasma (pg/ml) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	50,92 ± 16,85	47,57 ± 11,36	48,93 ± 15,39	44,76 ± 9,90	38,30 ± 10,94	40,83 ± 10,76	40,32 ± 9,71	56,62 ± 13,24
7,7mmol NaCl/kgKG/d	51,32 ± 17,99	47,57 ± 16,68	45,69 ± 11,37	41,99 ± 13,81	35,12 ± 9,45	40,04 ± 11,05	36,90 ± 10,14	38,41 ± 8,85
p		p = 0,55 (ns)						
bAP im Serum (µg/L) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	10,27 ± 3,28	10,79 ± 3,26	11,77 ± 3,69	11,69 ± 3,90	11,35 ± 3,83	10,85 ± 2,93	11,06 ± 3,61	9,96 ± 3,03
7,7mmol NaCl/kgKG/d	10,38 ± 2,35	11,45 ± 2,39	10,82 ± 2,24	10,89 ± 2,68	10,53 ± 2,46	10,74 ± 2,64	10,78 ± 2,75	11,02 ± 2,46
p		p = 0,74 (ns)						
Ocal im Serum (ng/ml) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	14,51 ± 1,87	14,68 ± 0,99	14,63 ± 1,89	14,94 ± 1,50	14,82 ± 1,63	14,54 ± 1,42	15,23 ± 0,88	14,10 ± 1,67
7,7mmol NaCl/kgKG/d	14,11 ± 2,30	14,23 ± 2,01	13,89 ± 1,49	14,30 ± 1,78	14,32 ± 1,40	13,95 ± 2,05	13,06 ± 1,82	13,32 ± 1,79
p		p = 0,32 (ns)						
PINP im Serum (µg/L) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	53,36 ± 19,38	49,69 ± 17,10	48,98 ± 16,62	46,82 ± 14,20	43,43 ± 12,31	42,91 ± 10,47	44,69 ± 10,08	44,02 ± 10,69
7,7mmol NaCl/kgKG/d	49,42 ± 9,02	53,37 ± 9,33	50,58 ± 11,03	49,34 ± 11,25	47,30 ± 9,70	48,94 ± 10,87	49,28 ± 10,78	49,17 ± 11,18
p		p = 0,50 (ns)						

p: Unterschiede zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr

ns = nicht signifikant

4.2.4 Renale Calciumexkretion (UCa)

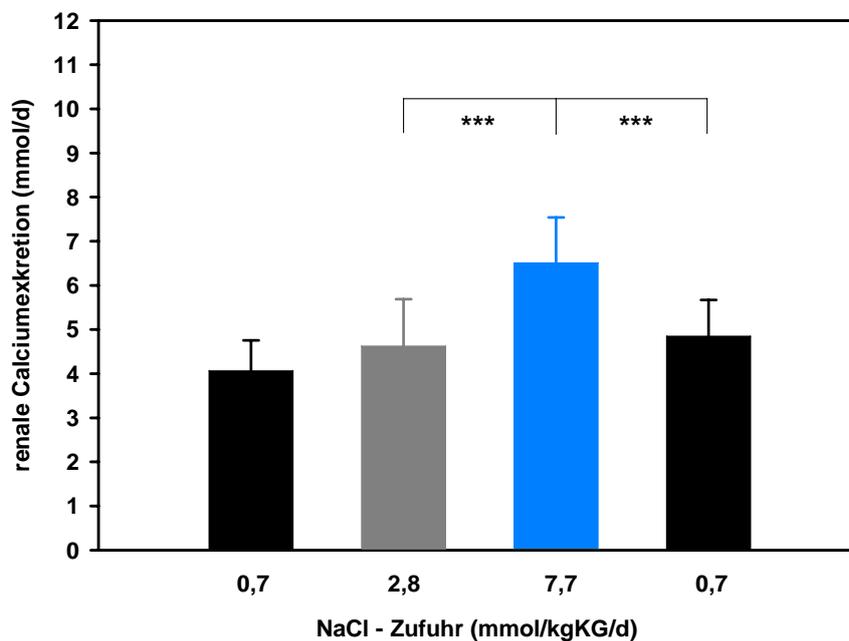
Abbildung 12 A/B ist die renale Calciumexkretion, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr, dargestellt. In beiden Studien kam es, wie erwartet, zu einer signifikanten Erhöhung der Calciumexkretion bei hoher Kochsalzzufuhr (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p < 0,001$).

Studie 1: Die statistische Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) der Ausscheidung von Calcium im Urin zeigte von Phase 1 zu Phase 2 nur einen tendenziellen Anstieg der

Ausscheidung von im Mittel $4,06 \pm 0,69$ mmol/Tag auf $4,63 \pm 1,06$ mmol/Tag ($p = 0,05$), während sie von Phase 2 zu Phase 3 signifikant auf $6,51 \pm 1,29$ mmol/Tag anstieg. Eine Absenkung der Kochsalzzufuhr in Phase 4 führte zu einer signifikant niedrigeren renalen Calciumausscheidung bis auf $4,90 \pm 0,82$ mmol/Tag (Abbildung 12 A).

Studie 2: Die renale Calciumexkretion adaptierte sich auch während HDTBR an die Kochsalzzufuhr. Bei hoher Kochsalzzufuhr und HDTBR lag die renale Calciumexkretion im Mittel bei einem Wert von $8,26 \pm 2,12$ mmol/Tag, während sie bei niedriger Kochsalzzufuhr und HDTBR bei durchschnittlich $4,75 \pm 1,11$ mmol/Tag lag (PROC MIXED: $p < 0,001$). Insgesamt lag die renale Calciumexkretion bei hoher Kochsalzzufuhr ca. 75 % höher als bei niedriger Kochsalzzufuhr (Abbildung 12 B).

A



B

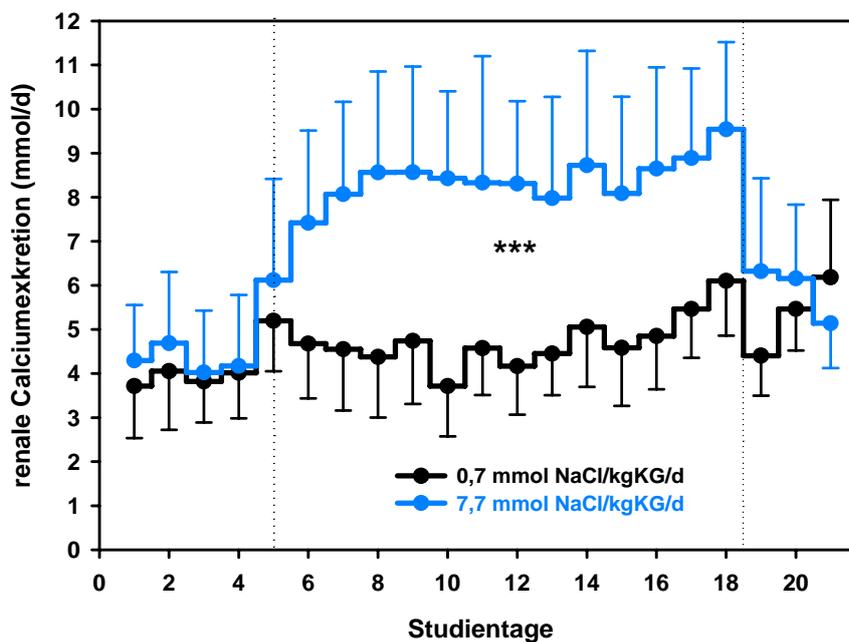


Abbildung 12 A/B: Renale Calciumexkretion bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der 9 Probanden pro Studienphase und in B (Studie 2) die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden pro Studientag. A: ANOVA: Unterschied zwischen allen Phasen: $p < 0,001$ (Nachtestung Tukey Test: $***p < 0,001$); B: PROC MIXED: Unterschied zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase: ($***p < 0,001$).

4.2.5 Knochenresorptionsmarker (CTX, NTX)

Die Veränderungen der Knochenresorptionsmarker CTX und NTX sind in Abbildung 13 A/B (CTX) und Abbildung 14 A/B (NTX) dargestellt. Eine hohe Kochsalzzufuhr führte in beiden Studien zu einem signifikanten Anstieg beider Knochenresorptionsmarker (ANOVA Studie 1 CTX, NTX: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2 CTX, NTX: $p < 0,001$).

Studie 1: Sowohl die renal ausgeschiedene Menge des Knochenresorptionsmarkers CTX als auch die renal ausgeschiedene Menge NTX stieg mit steigender Kochsalzzufuhr signifikant an (ANOVA beide: $p < 0,001$). Nach statistischer Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) ergab sich folgendes Bild: CTX stieg von Phase 2 zu Phase 3 von $2849 \pm 1040 \mu\text{g}/\text{Tag}$ auf $3755 \pm 1709 \mu\text{g}/\text{d}$ ($p = 0,013$), NTX von $966 \pm 341 \text{ nmol}/\text{Tag}$ auf $1287 \pm 466 \text{ nmol}/\text{Tag}$ ($p < 0,001$). In Phase 4 zeigten CTX und NTX einen signifikanten Rückgang der renalen Ausscheidung auf $2076 \pm 316 \mu\text{g}/\text{d}$ (CTX) bzw. $986 \pm 524 \text{ nmol}/\text{Tag}$ (NTX) (CTX: $p < 0,001$; NTX: $p = 0,002$) (Abbildung 13 A und Abbildung 14 A).

Studie 2: Insgesamt lagen die Ausscheidungswerte der Knochenabbaumarker in Studie 2 höher als in Studie 1. Beide Knochenabbaumarker zeigten während der Kopftieflagephase eine signifikant höhere Ausscheidung bei hoher Kochsalzzufuhr im Vergleich zu niedriger Kochsalzzufuhr (PROC MIXED: $p < 0,001$). Die CTX / NTX Ausscheidung lag bei hoher Kochsalzzufuhr im Mittel über den Zeitraum der Interventionsphase bei $5273 \pm 1551 \mu\text{g}/\text{Tag} / 991 \pm 234 \text{ nmol}/\text{Tag}$, während sie bei niedriger Kochsalzzufuhr nur bei $3706 \pm 1120 \mu\text{g}/\text{Tag} / 657 \pm 205 \text{ nmol}/\text{Tag}$ lag. Die Ausscheidung von CTX und NTX war im Mittel bei hoher Kochsalzzufuhr und HDTBR zwischen 24% (NTX) und 40 % (CTX) höher als bei niedriger Kochsalzzufuhr und Kopftieflage (Abbildung 13 B und Abbildung 14 B).

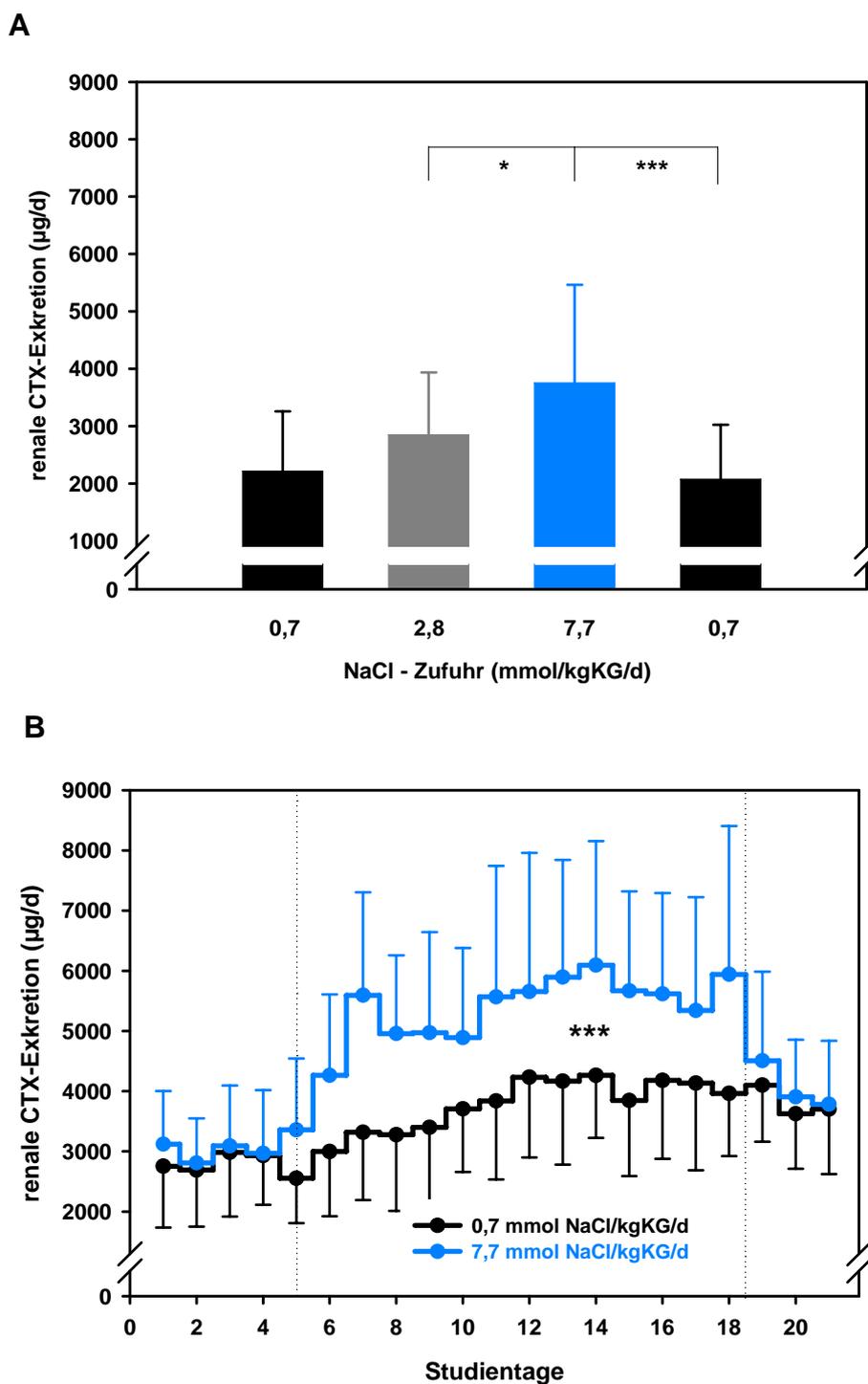
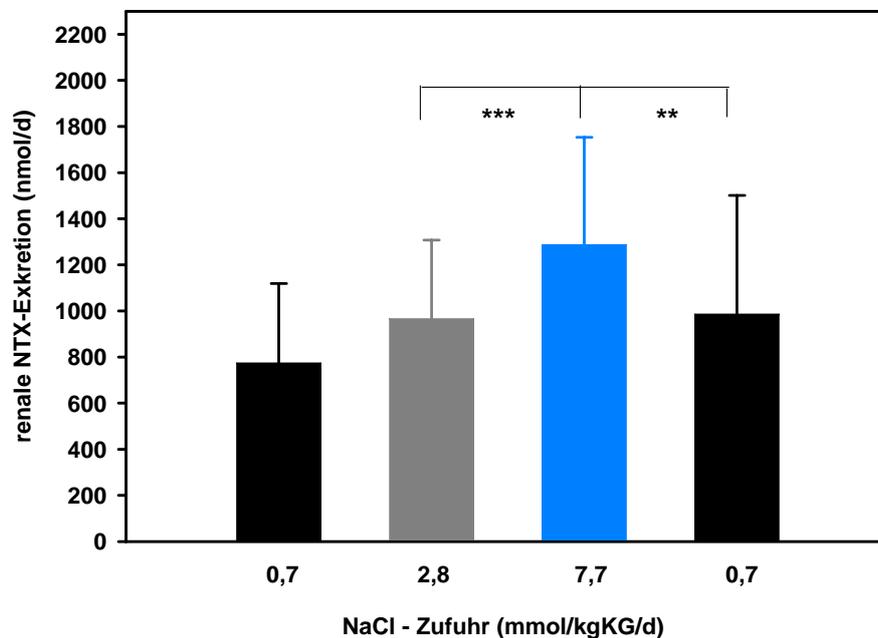


Abbildung 13 A/B: CTX bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der 9 Probanden pro Studienphase und in B (Studie 2) die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden pro Studientag. A: ANOVA: Unterschied zwischen allen Phasen: $p < 0,001$ (Nachtestung Tukey Test: $***p < 0,001$; $*p < 0,05$); B: PROC MIXED: Unterschied zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase: ($***p < 0,001$).

A



B

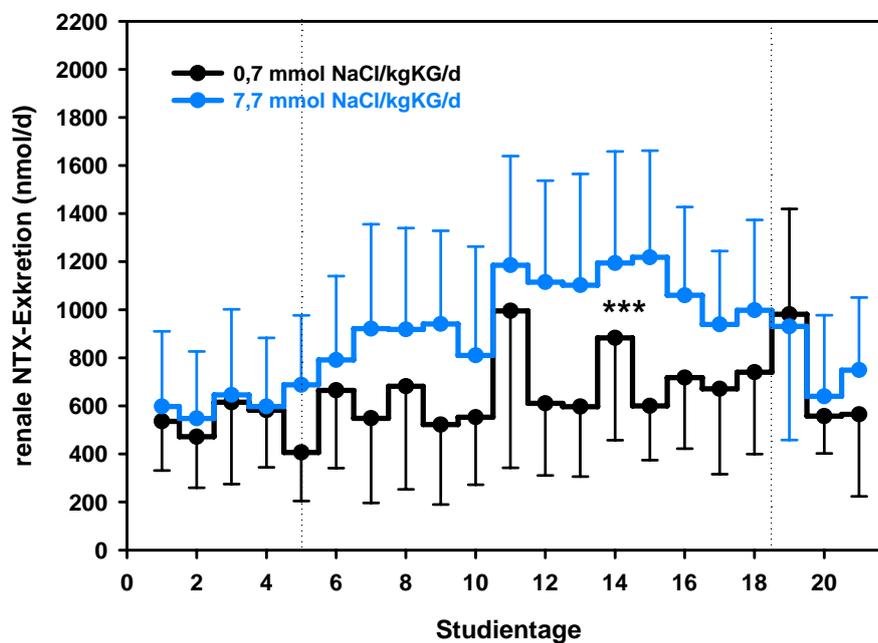


Abbildung 14 A/B: NTX bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der 9 Probanden pro Studienphase und in B (Studie 2) die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden pro Studientag. A: ANOVA: Unterschied zwischen allen Phasen: $p < 0,001$ (Nachtestung Tukey Test : $***p < 0,001$; $**p < 0,01$) ; B: PROC MIXED: Unterschied zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase: $***p < 0,001$.

4.3 Parameter des Säure-Basen Haushaltes

4.3.1 Parameter im Blut

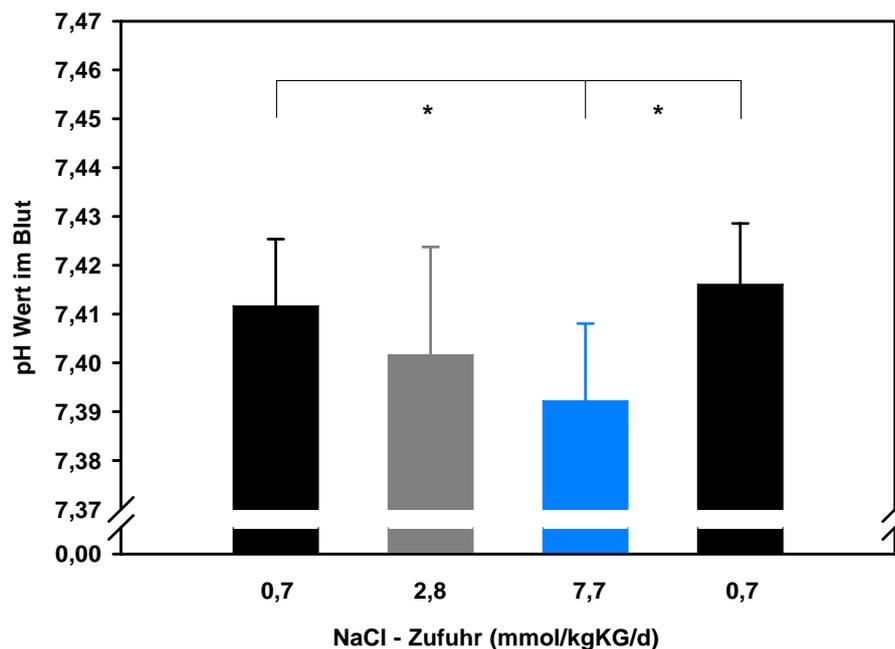
4.3.1.1 pH Wert

Abbildung 15 A/B zeigt die Veränderungen des pH Wertes in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr. Der pH-Wert im Blut zeigte nur in Studie 1 eine signifikante Erniedrigung mit steigender Kochsalzzufuhr (ANOVA: $p = 0,008$), während der pH Wert in Studie 2 über die gesamte Studiendauer konstant blieb (PROC MIXED: $p = 0,261$). Die pH Werte lagen in beiden Studien innerhalb des Normbereiches von 7,36 -7,44 (Morlion 1999; Pschyrembel 2004).

Studie 1: Die statistische Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) zeigte eine signifikante Erniedrigung des pH Wertes von Studienphase 1 ($7,412 \pm 0,01$) zu Phase 3 ($7,392 \pm 0,02$) ($p = 0,039$) und eine signifikante Erhöhung auf $7,416 \pm 0,01$ nach Reduktion der Kochsalzzufuhr in Phase 4 ($p = 0,039$) (Abbildung 15 A).

Studie 2: Die statistische Auswertung (PROC MIXED) zeigte keinen signifikanten Unterschied im pH Wert bedingt durch die unterschiedliche Höhe der Kochsalzzufuhr und HDTBR ($p = 0,26$) (Abbildung 15 B).

A



B

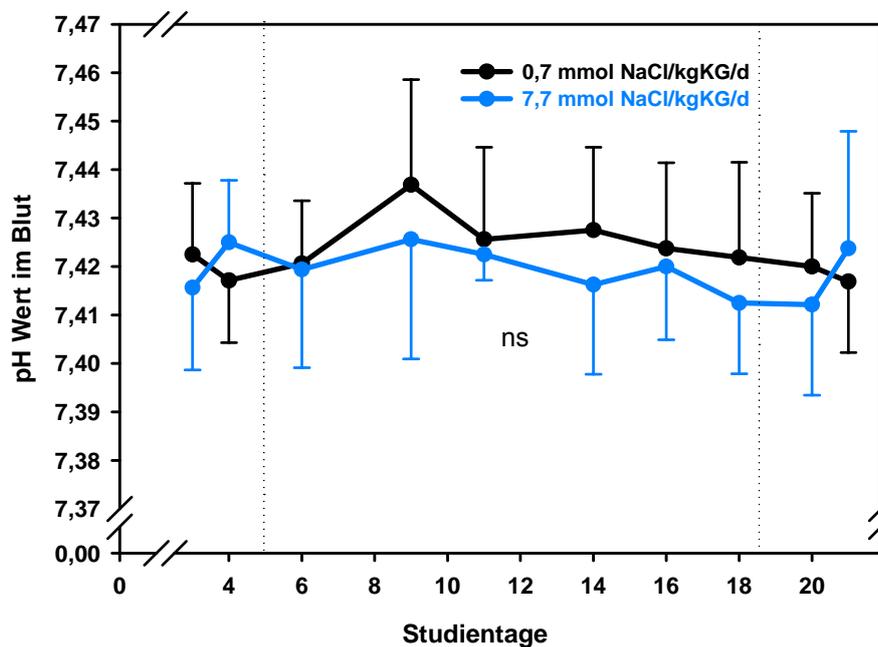


Abbildung 15 A/B: pH Wert im Blut bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der 9 Probanden pro Studienphase und in B (Studie 2) die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden an ausgewählten Studientagen. A: ANOVA: Unterschied zwischen allen Phasen: $p < 0,008$ (Nachtestung Tukey Test : $*p < 0,05$); B: PROC MIXED: Unterschied zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase: ns = nicht signifikant.

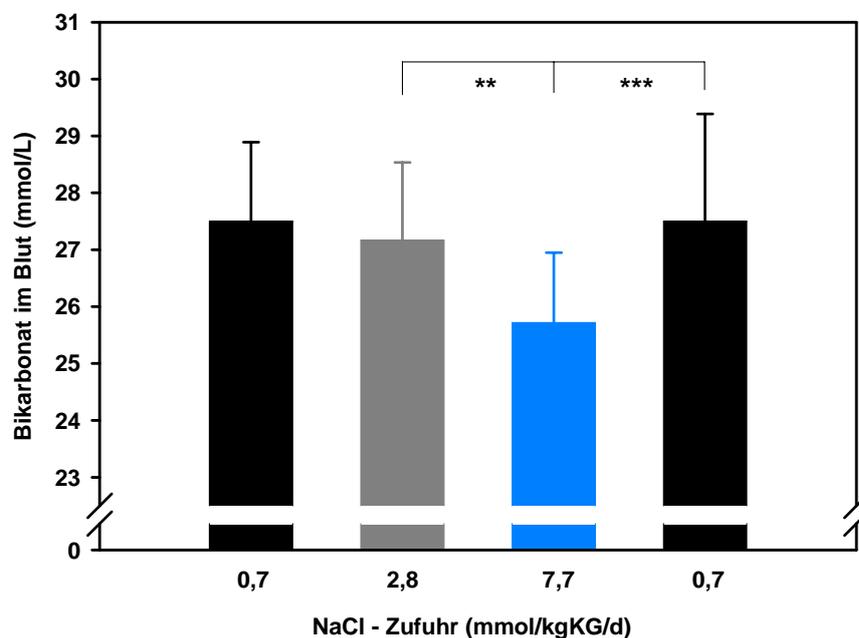
4.3.1.2 Bikarbonat

Abbildung 16 A/B zeigt die Veränderungen der Bikarbonatkonzentration in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr. In beiden Studien kam es zu einer signifikanten Reduktion der Bikarbonatkonzentration im Blut, bedingt durch eine hohe Kochsalzzufuhr (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p = 0,0175$).

Studie 1: Die Bikarbonatkonzentration sank laut statistischer Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) signifikant mit steigender Kochsalzzufuhr von $27,17 \pm 1,37$ mmol/L in Phase 2 auf $25,72 \pm 1,23$ mmol/L in Phase 3 ($p < 0,003$). Eine Reduktion der Kochsalzzufuhr in Phase 4 bewirkte eine Erhöhung der Bikarbonatkonzentration auf das Ausgangsniveau von $27,5 \pm 1,89$ mmol/L in Phase 4 ($p < 0,001$) (Abbildung 16 A).

Studie 2: Die statistische Auswertung (PROC MIXED) zeigte signifikant Unterschiede in der Bikarbonatkonzentration zwischen den beiden Behandlungsmethoden während HDTBR ($p = 0,0175$). Während der Interventionsphase lag die Bikarbonatkonzentration bei hoher Kochsalzzufuhr mit einem mittleren Wert von $25,21 \pm 0,16$ mmol/L konstant unter der Konzentration bei niedriger Kochsalzzufuhr mit einem mittleren Wert von $26,40 \pm 0,39$ mmol/L (Abbildung 16 B).

A



B

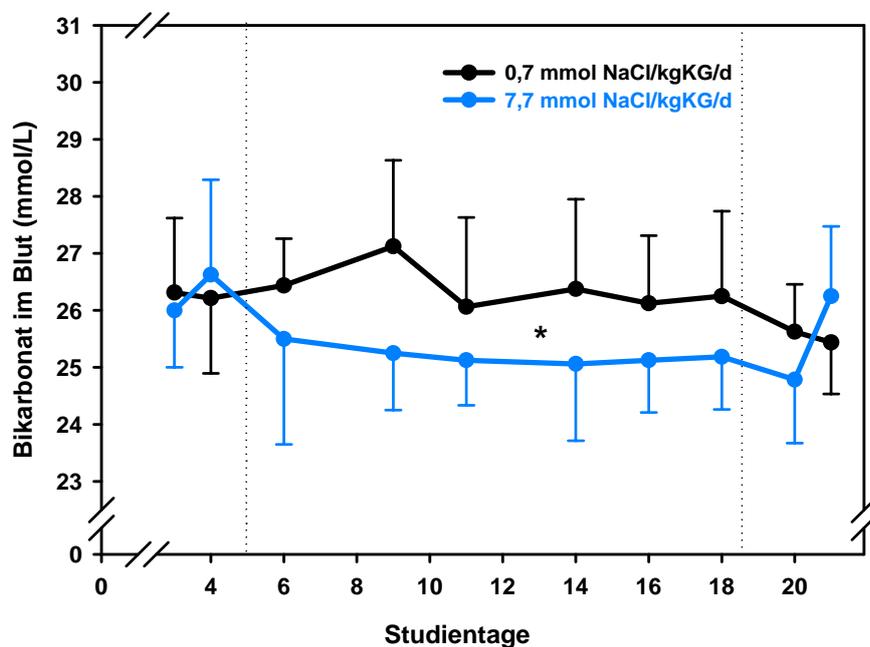


Abbildung 16A/B: Bikarbonatkonzentration bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der 9 Probanden pro Studienphase und in B (Studie 2) die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden an ausgewählten Studientagen. A: ANOVA: Unterschied zwischen allen Phasen: $p < 0,001$ (Nachtestung Tukey Test: $**p < 0,01$); B: PROC MIXED: Unterschied zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase: $*p < 0,05$.

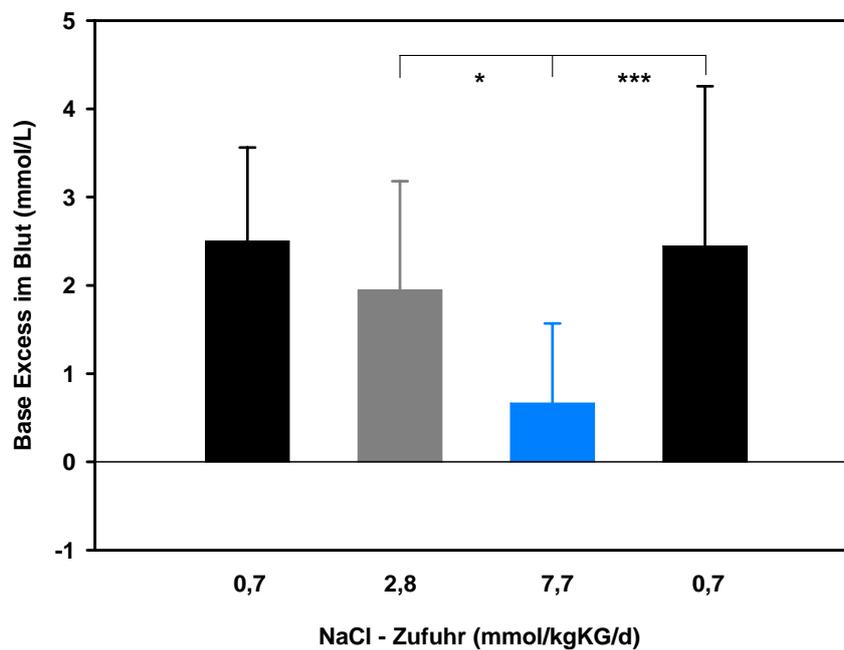
4.3.1.3 Base Excess (BE)

In Abbildung 17 A/B ist der Base Excess Wert, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr, dargestellt. Der BE Wert zeigte erwartungsgemäß einen ähnlichen Verlauf wie die Bikarbonatkonzentration mit einer signifikanten Reduktion in beiden Studien, bedingt durch hohe Kochsalzzufuhr (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p = 0,0093$).

Studie 1: Die statistische Nachtestung (ANOVA, Tukey Test) ergab eine signifikante Reduktion des BE Wertes von $1,94 \pm 0,41$ mmol/L in Phase 2 auf $0,67 \pm 0,3$ mmol/L in Phase 3 ($p = 0,015$) und einen Anstieg auf $2,44 \pm 0,6$ mmol/L in Phase 4 ($p < 0,001$).

Studie 2: Die statistische Auswertung (PROC MIXED) zeigte signifikante Unterschiede im Base Excess zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr während HDTBR ($p = 0,0093$). Bei hoher Kochsalzzufuhr hatten die Probanden über die gesamte Zeit der Interventionsphase einen niedrigeren BE Wert (im Mittel: $0,88 \pm 0,20$) als bei niedriger Kochsalzzufuhr (im Mittel $2,0 \pm 0,44$) (Abbildung 17 B).

A



B

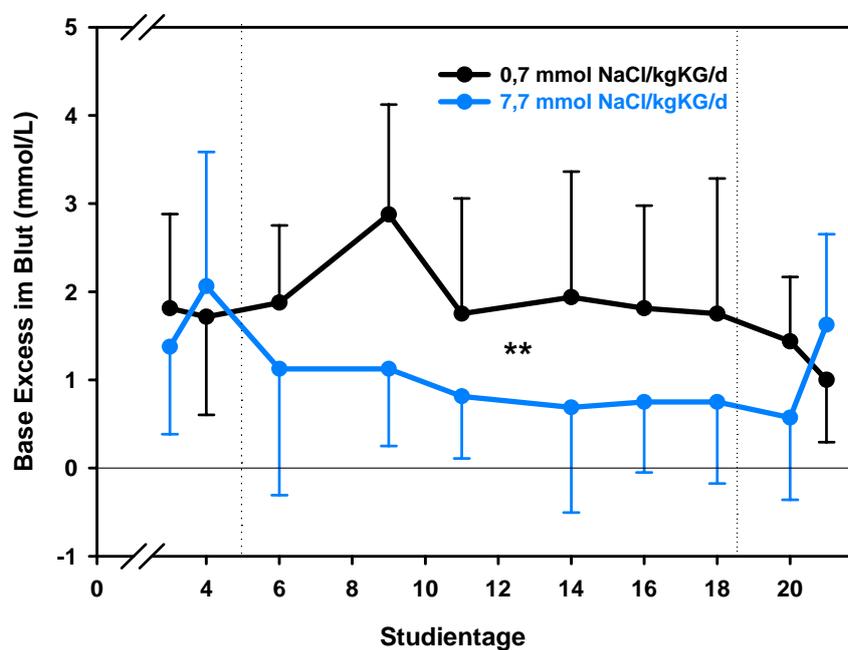


Abbildung 17 A/B: Base Excess bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte \pm SD der 9 Probanden pro Studienphase und in B (Studie 2) die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden an ausgewählten Studientagen. A: ANOVA: Unterschied zwischen allen Phasen: $p < 0,001$ (Nachtestung Tukey Test : *** $p < 0,001$; * $p < 0,05$); B: PROC MIXED: Unterschied zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase: ** $p < 0,01$.

4.3.1.4 PO₂ und PCO₂

In Tabelle 10 A/B sind die PO₂ und PCO₂ Veränderungen bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr dargestellt. Beide Studien zeigten keine signifikanten Unterschiede des PO₂ und PCO₂, in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr (ANOVA Studie 1: PO₂: p = 0,55; PCO₂: p = 0,53; PROC MIXED Studie 2: PO₂: p = 0,57; PCO₂: p = 0,07).

Tabelle 10 A/B: PO₂ und PCO₂ bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind in A (Studie 1) die Mittelwerte ± SD der 9 Probanden pro Studienphase und in B (Studie 2) die Mittelwerte ± SD der 8 Probanden des angegebenen Studientages

A

Parameter im Kapillarblut	0,7 mmol NaCl/kgKG/d	2,8 mmol NaCl/kgKG/d	7,7 mmol NaCl/kgKG/d	0,7 mmol NaCl/kgKG/d	p-Wert (ANOVA)
PO ₂ (mmHg)	62,11 ± 5,35	63,05 ± 5,01	64,72 ± 7,47	65,67 ± 6,83	p = 0,55 (ns)
PCO ₂ (mmHg)	43,33 ± 1,73	44,33 ± 2,52	43,00 ± 2,73	45,72 ± 8,52	p = 0,53 (ns)

p: Unterschied zwischen allen Studienphasen

ns = nicht signifikant

B

	Adaptation	Intervention						Erholung
		Tag 6	Tag 9	Tag 11	Tag 14	Tag 16	Tag 18	
PO₂ im Kapillarblut (mmHg) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	70,05 ± 5,00	72,31 ± 6,58	69,86 ± 6,48	71,13 ± 7,90	69,25 ± 7,04	67,31 ± 6,96	68,88 ± 6,77	71,21 ± 6,26
7,7mmol NaCl/kgKG/d	71,22 ± 4,24	72,81 ± 4,62	70,19 ± 5,54	72,13 ± 8,55	70,56 ± 6,24	68,06 ± 9,50	70,50 ± 4,17	72,21 ± 4,97
p		p = 0,57 (ns)						
PCO₂ im Kapillarblut (mmHg) MW ± SD								
0,7mmol NaCl/kgKG/d	40,68 ± 2,09	40,75 ± 1,85	40,36 ± 3,18	39,56 ± 2,65	40,25 ± 2,41	39,81 ± 1,53	40,63 ± 1,66	39,34 ± 1,39
7,7mmol NaCl/kgKG/d	40,53 ± 1,56	39,63 ± 3,07	38,29 ± 2,48	38,69 ± 1,28	39,50 ± 2,28	38,69 ± 1,96	39,75 ± 1,58	39,59 ± 2,72
p		p = 0,07 (ns)						

p: Unterschied zwischen hoher und niedriger Kochsalzzufuhr

ns = nicht signifikant

4.3.1.5 Anionen Lücke

Nach Berechnung der Anionen Lücke bei hoher Kochsalzzufuhr ergab sich für beide Studien ein unterschiedliches Bild. In Studie 1 konnte in Phase 3 bei hoher Kochsalzzufuhr eine vergrößerte Anionen Lücke von im Mittel $24,21 \pm 2,52$ mmol/L festgestellt werden, während Studie 2 bei hoher Kochsalzzufuhr eine normale Anionen Lücke von $15,52 \pm 2,98$ mmol/L aufwies. Nach Betrachtung der einzelnen Berechnungsparameter zeigt sich, dass allein die stark erhöhte Natriumkonzentration im Serum bei Studie 1 diesen Unterschied bedingt. In beiden Studien wurde die erniedrigte Bikarbonatkonzentration durch eine Erhöhung der Chloridionenkonzentration ausgeglichen (hyperchlorämische Azidose).

4.3.2 pH Wert im 24-h Urin

Der pH Wert im 24-h Urin wurde nur in Studie 2 gemessen. Abbildung 18 zeigt den pH Wert im 24-h Urin im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit von der Kochsalzzufuhr. Die statistische Auswertung (PROC MIXED) zeigte einen signifikant höheren 24-h Urin pH-Wert von $6,68 \pm 0,12$ bei hoher Kochsalzzufuhr, im Vergleich zu einem pH Wert von $6,14 \pm 0,23$ bei niedriger Kochsalzzufuhr ($p < 0,001$).

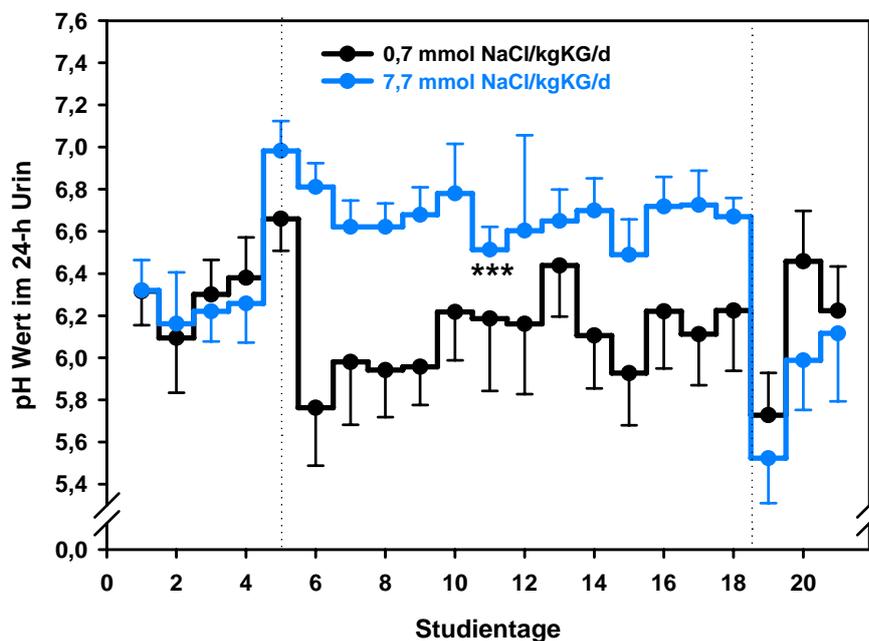


Abbildung 18: pH Wert im 24-h Urin bei unterschiedlicher Kochsalzzufuhr.

Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD der 8 Probanden pro Studientag. PROC MIXED: Unterschied zwischen der Hoch- und Niedrigsalzphase: *** $p < 0,001$.

4.3.2.1 PRAL Wert der Diät

Es zeigten sich in beiden Studien signifikante Unterschiede in der potentiellen renalen Säureladung der Diät zwischen den verschiedenen Kochsalzphasen (ANOVA Studie 1: $p < 0,001$; PROC MIXED Studie 2: $p < 0,001$).

Studie 1: Der PRAL Wert, gemittelt über die Tage der einzelnen Kochsalzphasen, lag in Phase 1 und Phase 4 bei $6,14 \pm 3,5$ mEq/Tag, in Phase 2 bei $-19,9 \pm 7,5$ mEq/Tag und in Phase 3 bei $-39,85 \pm 7,75$ mEq/Tag. Die Betrachtung aller Phasen zeigt, dass es sich in keiner Studienphase um eine säurebildende Diät handelte. Weiterhin ist festzustellen, dass die hohe Kochsalzdiät aufgrund des niedrigsten PRAL Wertes mehr Basenvorläufer erhielt als die Diäten der anderen Kochsalzphasen.

Studie 2: Der PRAL Wert der Niedrigsalzphase lag im Mittel, über die Tage der Interventionsphase, bei $17,41 \pm 10,33$ mEq/Tag und in der Hochsalzphase bei $-41,50 \pm 20,43$ mEq/Tag. Dies zeigt, wie auch schon in Studie 1, dass die Diät der Hochsalzphase keine säurebildende, sondern eine basenbildende Diät war.

5 Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, den Einfluss einer hohen Kochsalzzufuhr sowohl auf die Art der Natriumspeicherung als auch auf den Knochenstoffwechsel unter Einbeziehung von Veränderungen im Säure-Basen Haushalt bei ambulanten (Studie 1) und bei immobilisierten (Studie 2) Probanden zu untersuchen.

Eine hohe Kochsalzzufuhr von 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag hatte in beiden Studien eine Speicherung von Natrium zur Folge, die sich bzgl. der Art der Speicherung bei ambulanten und immobilisierten Probanden nur in Bezug auf den Kaliumhaushalt in Teilen unterschied. Untersuchungen des Knochenstoffwechsels zeigten, dass eine hohe Kochsalzzufuhr bei gleichbleibender Knochenformationsrate zu einer erhöhten Knochenresorptionsrate sowohl bei ambulanten als auch bei immobilisierten Probanden führte. Diese gestiegene Knochenresorption ging in beiden Studien mit dem Auftreten einer latenten metabolischen Azidose einher.

Wie auch in der Literatur von Heer et al. (Heer et al. 2000a) und anderen (Farber und Soberman 1956; Kirkendall et al. 1976; McKnight et al. 1994; Sagnella et al. 1989; Titze et al. 2002b; Titze et al. 2003) beschrieben, konnte in den dargestellten Experimenten die Zufuhr einer sehr hohen Kochsalzmenge nicht vollständig durch eine erhöhte renale Natriumexkretion ausgeglichen werden. Obwohl Aldosteron als ein wichtiges Hormon der Natriumregulation fast vollständig supprimiert war, reichte die Menge des renal ausgeschiedenen Natriums nicht aus, um eine ausgeglichene Natriumbilanz wieder herzustellen. Die Folge war demnach eine positive Natriumbilanz bei hoher Kochsalzzufuhr sowohl bei ambulanten als auch bei immobilisierten Probanden. In Studie 1 zeigte sich, dass auch bei 6-tägiger durchschnittlich normaler Kochsalzzufuhr von 2,8 mmol NaCl/kgKG/Tag Natrium gespeichert wurde. Die zusätzlich ausgeschiedene Menge, die über Fäzes und Haut verloren ging, konnte die Differenz von Zufuhr und renaler Ausscheidung nicht erklären. Von großer Bedeutung sind die großen individuellen Unterschiede in der absoluten Menge der Natriumspeicherung, die in beiden Studien beobachtet wurden. Die Höhe der Natriumspeicherung war individuell sehr unterschiedlich und reichte von 60 bis 747 mmol in Studie 1 bei 10-tägiger hoher Kochsalzzufuhr und von 208

bis 658 mmol in Studie 2 bei 14-tägiger hoher Kochsalzzufuhr und Immobilisation. In beiden Studien gab es jeweils einen Probanden, der überhaupt kein Natrium speicherte. Es scheint demnach Personen zu geben die, unabhängig von der Höhe der oralen Natriumchloridzufuhr, die gesamte überschüssig aufgenommene Natriummenge ausscheiden können. Eine Erklärung hierfür ist bislang nicht gefunden. Eine unterschiedliche „Salz-Sensitivität“, wie sie auch beim Einfluss von Kochsalz auf den Blutdruck diskutiert wird (Hernandez, I und Raji 2006; Ummenhofer und Kluthe 1994), könnte eine mögliche Ursache sein. Hintergrund dieses Phänomens sind individuelle Reaktionen auf eine Salzrestriktion in der Bluthochdrucktherapie, die auf eine genetisch bedingte unterschiedliche Salzempfindlichkeit zurückgeführt wird. Dabei wird geschätzt, dass nur etwa 20-30% der Bevölkerung und etwa knapp die Hälfte der Hypertoniker auf eine reduzierte Kochsalzaufnahme mit einer Blutdrucksenkung reagieren (Ummenhofer and Kluthe 1994). Die Unterschiede in der Menge der Natriumspeicherung könnten somit ebenfalls durch genetische Unterschiede in der Salzempfindlichkeit bedingt sein und auch Einfluss auf die Entwicklung eines Bluthochdrucks bei hoher Kochsalzzufuhr nehmen. Für diesen Zusammenhang gibt es jedoch bislang keine Belege.

Zur Ermittlung von Flüssigkeitsveränderungen im Organismus, die einen Hinweis auf die Art der Natriumspeicherung geben, wurden die Wasserbilanz und Körpergewichtsveränderungen betrachtet. Entgegen der gängigen Lehrbuchmeinung, die besagt, dass eine Natriumspeicherung osmotisch aktiv, d.h. mit einer gleichzeitigen Flüssigkeitsretention einhergeht (Guyton and Hall 2000b), konnte in beiden Studien bei jeweils sehr hoher Kochsalzzufuhr keine entsprechend hohe positive Wasserbilanz oder Körpergewichtszunahme verzeichnet werden, welche eine Speicherung des Natriums mit Flüssigkeitsretention hätte erklären können. Während bei einer durchschnittlich normalen Kochsalzzufuhr, entsprechend der Lehrbuchmeinung, sowohl eine positive kumulative Wasserbilanz als auch eine Körpergewichtszunahme zu beobachten war, kam es bei hoher Zufuhr von Kochsalz zu einer negativen kumulativen Wasserbilanz und zu einem nur sehr geringen Körpergewichtszuwachs (Studie 1). In Immobilisation zeigten die Probanden bei hoher als auch bei niedriger Kochsalzzufuhr eine kopftieflagebedingte negative

kumulative Wasserbilanz und einen Körpergewichtsverlust (Grenon et al. 2004; Heer et al. 1992), was auf die Flüssigkeitsverschiebung und auf den immobilisationsbedingten Muskelabbau zurückzuführen ist (Ferrando et al. 1996; Leach 1979; Norsk 1992; Parazyński et al. 1991; Rittweger et al. 2005). Der geringere Wasser- und Körpergewichtsverlust bei hoher Kochsalzzufuhr im Vergleich zu niedriger Kochsalzzufuhr, der auf eine Flüssigkeitsretention hindeutet, reichte in der absoluten Menge jedoch auch hier nicht aus, um eine vollständig osmotisch aktive Natriumspeicherung zu erklären. In beiden Studien wurden anhand der Betrachtung der Körpergewichtsveränderungen ca. 0,4 kg (Studie 1) bzw. 0,9 kg (Studie 2) Flüssigkeit bei hoher Kochsalzzufuhr gespeichert. Zur Bestimmung der Natriummenge, die mit 0,4 bzw. 0,9 kg gespeichert werden kann, kann die Konzentration einer isotonischen Kochsalzlösung mit 145 mmol Na⁺/L zur Berechnung herangezogen werden. Unter der Voraussetzung, dass kg gleich L ist, sind in 0,4 bzw. 0,9 L Flüssigkeit 58 bzw. 130,5 mmol osmotisch aktiv gebundene Na⁺-Ionen enthalten. Bezogen auf die Gesamtmenge von im Mittel 290 (Studie 1) bzw. 335 mmol (Studie 2) gespeichertem Natrium können demnach nur 20% in Studie 1 bzw. 38% in Studie 2 durch eine Flüssigkeitsretention erklärt werden. Es stellt sich die Frage, in welcher Form die verbleibende Natriummenge im Körper gespeichert wurde. Als verschiedene Möglichkeiten ergeben sich zum einen eine osmotisch inaktive Natriumspeicherung, wie sie auch schon von Titze et al. (Titze et al. 2003) bei Ratten beobachtet wurde und/oder zum anderen eine intrazellulär osmotisch neutrale Natriumspeicherung, die im Austausch mit Kalium erfolgen kann (Nguyen und Kurtz 2006; Seeliger et al. 2006; Titze et al. 2005). Seeliger et al. (Seeliger et al. 2006) zeigten an Hunden und Titze et al. (Titze et al. 2005) an DOCA-Salz Ratten bereits, dass diese Art des Austausches möglich ist.

Die Betrachtung der Kaliumbilanz zur Ermittlung eines möglichen Kaliumaustausches bei hoher Kochsalzzufuhr, zeigte Unterschiede zwischen ambulanten und immobilisierten Probanden. In Studie 1 kam es bei ambulanten Probanden zu einer negativen kumulativen Bilanz von -23 mmol, womit lediglich ein Kaliumaustausch von ca. 8% des gespeicherten Natriums zu erklären wäre. In Studie 2 hingegen war die kumulative Kaliumbilanz bei hoher Kochsalzzufuhr deutlich negativer. Im Mittel

wurden über den Zeitraum der Interventionsphase 206 mmol Kalium mehr ausgeschieden als zugeführt. Somit könnten ca. 61% des retinierten Natriums intrazellulär im Austausch mit Kalium osmotisch neutral gespeichert worden sein. Allerdings ist hier zu berücksichtigen, dass die negative Kaliumbilanz hauptsächlich auf eine gestiegene renale Kaliumexkretion in den ersten 3 Kopftieflage-Tagen zurückzuführen ist. Sie ist daher eventuell nur als erste Anpassung an die veränderte Körperposition in Kopftieflage mit gleichzeitiger hoher Kochsalzexposition anzusehen. Andere Kopftieflage-Studien zeigen zum Teil unterschiedliche Ergebnisse; die meisten Studien belegen jedoch, wie auch Daten aus Weltraumexperimenten (Leach et al. 1976; Lutwak et al. 1969), eine gesteigerte Kaliumausscheidung bzw. eine negative Kaliumbilanz während Kopftieflage mit Kochsalzzufuhrmengen zwischen 117 bis 200 mmol/Tag (Annat et al. 1986; Bestle et al. 2001; Chobanian et al. 1974; Fortney et al. 1994; Gharib und Hughson 1992; Grenon et al. 2004; Guell et al. 1982; Melada et al. 1975). Über die Ursachen gibt es in der Literatur bisher jedoch keine plausiblen Erklärungen (Grenon et al. 2004).

Betrachtet man nun die Ergebnisse der Flüssigkeitsveränderungen und der Kaliumbilanz im Zusammenhang, ergibt sich in Studie 1 eine Natriummenge von im Mittel ca. 72%, welche osmotisch inaktiv gespeichert wurde. Bei Studie 2 hingegen konnte im Mittel keine osmotisch inaktive Natriumspeicherung beobachtet werden. Allerdings bleibt auch hier festzuhalten, dass viele individuelle Unterschiede auftraten, und dass es bei einzelnen Probanden auch in HDTBR zu einer osmotisch inaktiven Natriumspeicherung von bis zu 60% bei hoher Kochsalzzufuhr kam.

Wenn Natrium osmotisch inaktiv gespeichert wird, stellt sich die Frage nach einem möglichen Speicherort. Schon vor ca. 50 Jahren vermuteten Farber und Soberman (Farber and Soberman 1956) eine osmotisch inaktive Speicherung in Knochen, Knorpel oder im Bindegewebe. Titze et al. (Titze et al. 2003; Titze et al. 2004a) fanden in Rattenversuchen heraus, dass osmotisch inaktives Natrium in der Haut gespeichert werden kann. Glycosaminoglykane (GAG) als ubiquitär vorkommende polyanionische Polysaccharide scheinen eine zentrale Rolle in der osmotisch inaktiven Bindung von Natrium zu spielen. Aufgrund der negativen Ladungsdichte, die sich mit dem Ausmaß der Sulfatierung erhöht, ziehen sie Kationen an und

wehren Anionen ab (Sugahara und Kitagawa 2000; Volpi 1999). Titze et al. (Titze et al. 2004b) konnten zeigen, dass die GAG-Synthese in der Haut bei Ratten mit osmotisch inaktiver Natriumspeicherung anstieg. Auch eine erst kürzlich veröffentlichte Studie von Schaffhuber et al. (Schaffhuber et al. 2007) belegte an Ratten, dass die Mobilisation von in der Haut osmotisch inaktiv gespeichertem Natrium nach 4 Wochen niedriger Salzzufuhr von einer Abnahme der negativen Ladung und des Sulfatierungsgrades der in der Haut befindlichen Glycosaminoglykane begleitet war. Eine hohe Salzzufuhr über 4 Wochen erhöhte ebenfalls den Sulfatierungsgrad der GAGs und damit die negative Ladungsdichte, die eine Natriumspeicherung möglich macht. Ähnliche Versuche am Menschen, welche die Haut als osmotisch inaktives Speicherorgan identifizieren würden, wären sinnvoll.

Unabhängig von der Art und Menge der Natriumspeicherung, konnte in beiden Studien und bei allen Probanden sowohl ein gleiches Reaktionsmuster im Knochenstoffwechsel als auch im Säure-Basen Haushalt beobachtet werden.

Wie erwartet und wie in vielen anderen Studien sowohl an Tieren (Chan und Swaminathan 1993; Creedon und Cashman 2000; Galletti et al. 1991; Goulding and Campbell 1984; Goulding und Gold 1986; Iwasa et al. 2000; McCarron et al. 1981; Saric et al. 2005) als auch an Menschen (Carbone et al. 2003; Chan et al. 1992; Dawson-Hughes et al. 1996; Itoh and Suyama 1996; Lietz et al. 1997; Matkovic et al. 1995; Nordin et al. 1993) beschrieben, führte eine hohe Kochsalzzufuhr nicht nur zu einer gesteigerten Natriumexkretion, sondern auch zu einer gesteigerten Calciumexkretion. Eine Steigerung der Natriumzufuhr um 100 mmol bewirkt laut Literatursatzung eine um 0,5 - 1,0 mmol gesteigerte Calciumexkretion (Heaney 2006) in Studien, die bis zu 300 mmol Natrium pro Tag einsetzten. In unseren Studien mit einer wesentlich höheren Natriumzufuhr (von ca. 550 bis 600 mmol) ergaben sich durchschnittliche Steigerungsraten von $0,5 \pm 0,1$ mmol (Studie 1) bis $0,7 \pm 0,1$ mmol (Studie 2) pro 100 mmol Erhöhung der oralen Natriumzufuhr. Da dieser Wert an der unteren Grenze des in der Literatur beschriebenen Wertes liegt, kann man darauf schließen, dass die Steigerung der Calciumexkretion nicht linear verläuft. Die Hypercalciurie wurde nicht durch andere diätetische Faktoren (z.B.

Calcium, Protein, Kohlenhydrate, Kalium), die ebenfalls als Auslöser einer Hypercalciurie angesehen werden (Audran and Legrand 2000), verursacht, da diese Nährstoffe in beiden Studien konstant gehalten wurden. Studie 2 zeigte im Vergleich zu Studie 1 bei gleich hoher Kochsalzzufuhr eine höhere Calciumexkretion, welche auf den zusätzlichen calciuretischen Effekt der Immobilität der Probanden zurückzuführen ist (Grenon et al. 2004). Als Ursache für den calciuretischen Effekt von Kochsalz wird in den meisten Studien, wie unter Punkt 2.2 beschrieben, ein gemeinsamer Transportmechanismus in der Niere vermutet. Über die Folgen einer erhöhten Calciumexkretion in Bezug auf den Knochenstoffwechsel gibt es in der Literatur einige Untersuchungen, die im Folgenden näher erläutert werden. Erste Beobachtungen, dass eine erhöhte renale Calciumexkretion mit einer niedrigeren Knochenmasse assoziiert ist, wurden an erwachsenen Patienten mit einer Hypercalciurie und daraus resultierenden Nierensteinen in einer Studie von Alhava et al. (Alhava et al. 1976) beschrieben. Auch Pietschmann et al. (Pietschmann et al. 1992) bestimmten die Knochendichte an der Lendenwirbelsäule bei hypercalciuretischen Patienten im Vergleich zu Versuchspersonen ohne Hypercalciurie. Der Vergleich beider Gruppen ergab, dass die Knochendichte am trabekulären Knochen bei Hypercalciurien Patienten signifikant reduziert war. Auch Studien mit CSF (calcium-stone-forming)-Patienten liefern ähnliche Ergebnisse (Bataille et al. 1991; Heilberg et al. 1994; Trinchieri et al. 1998). Bei diesen Patienten kam jedoch erschwerend hinzu, dass sie zusätzlich ihre Calciumaufnahme über die Nahrung reduzierten. Die Annahme, dass eine erhöhte renale Calciumexkretion bei Gesunden jedoch unausweichlich den Knochenstoffwechsel negativ beeinflusst, ist in der Literatur noch umstritten (Audran and Legrand 2000). Gesunde Individuen besitzen verschiedene Anpassungsmöglichkeiten, wie z.B. eine Steigerung der intestinalen Calciumabsorption, die eine erhöhte Calciumexkretion ausgleichen können, ohne dass Calcium aus dem Knochen ausgelagert wird. Ergebnisse unserer Studien deuten jedoch darauf hin, dass diese Anpassungsmechanismen ab einer bestimmten Höhe der Kochsalzzufuhr nicht vollständig ausreichen.

Obwohl die Literatur bei gesunden Probanden kontroverse Ergebnisse bezüglich des Einflusses einer hohen Kochsalzzufuhr und einer gestiegenen renalen

Calciumexkretion auf den Knochenstoffwechsel zeigt (siehe Punkt 2.2), konnten wir in beiden Studien ein einheitliches und eindeutiges Bild in Bezug auf den Knochenstoffwechsel anhand der Biomarker des Knochenstoffwechsels beobachten. Eine hohe Kochsalzzufuhr führte, im Vergleich zu einer niedrigen Kochsalzzufuhr, zu einer 30-40%igen Steigerung der Exkretion der Knochenresorptionsmarker CTX und NTX bei ambulanten sowie auch bei immobilisierten Probanden. Eine hohe Kochsalzzufuhr konnte die immobilisationsbedingte erhöhte Knochenresorption, wie sie auch in der Literatur beschrieben wird (Andrews 1997; Fiore et al. 1999; Kim et al. 2003; LeBlanc et al. 1990; Smith et al. 1998), sogar noch verstärken. Im Gegensatz dazu zeigten die Knochenformationsmarker wenige durch hohe Kochsalzzufuhr bedingte Veränderungen. In Studie 1 konnte lediglich nach Reduktion der Kochsalzzufuhr eine Abnahme der Knochenaufbaumarker PINP und Osteocalcin gezeigt werden, welche vermutlich als Zeiteffekt aufgrund der insgesamt reduzierten körperlichen Aktivität der Testpersonen während ihres 28-tägigen Aufenthaltes im Labor zu erklären ist.

Ob die beobachtete gesteigerte Knochenresorption durch eine erhöhte Aktivität des Parathormons ausgelöst worden ist, konnte - wie auch in den meisten anderen Studien der Literatur (Evans et al. 1997; Harrington et al. 2004a; Harrington et al. 2004b; Weisinger 1996) - nicht bestätigt werden. In den in dieser Arbeit beschriebenen Studien konnte keine kochsalzbedingte erhöhte PTH-Aktivität im Nüchternblut nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse lassen jedoch nicht vollkommen ausschließen, dass PTH dennoch beteiligt ist. Zemel et al. (Zemel et al. 1989) zeigten, dass PTH bereits 15 Minuten nach einer Salzinfusion anstieg. Bei einer Halbwertszeit des PTH's von nur 4 Minuten (Bieglmayer et al. 2002; Jubiz et al. 1972) kann dies bedeuten, dass der Effekt von Kochsalz auf PTH im Nüchternblut nach einer mindestens 10-stündigen Fastenperiode nicht mehr nachzuweisen ist (McCarron et al. 1981). In zukünftigen Studien sollte daher PTH zu mehreren Zeitpunkten postprandial bestimmt werden, um den direkten Einfluss einer kochsalzreichen Mahlzeit auf die PTH-Aktivität zu messen.

Die gesteigerte Knochenresorption bei hoher Kochsalzzufuhr war in beiden Studien begleitet von Veränderungen im Säure-Basen Haushalt. Eine erniedrigte kapilläre

Bikarbonatkonzentration sowie ein erniedrigter Base Excess Wert, in Studie 1 sogar ein signifikant erniedrigter pH Wert, innerhalb der jeweiligen Normbereiche, deuten auf eine latente metabolische Azidose hin, die durch die hohe Kochsalzzufuhr induziert wurde. Unter dieser Form der Azidose versteht man eine geringfügige Verschiebung des Blut pH Wertes innerhalb des Normbereiches zum Säuren hin. Sie ist begleitet von einer gleichzeitigen Verminderung der Pufferkapazität des Blutes und verläuft ohne spürbare klinische Symptome. Die verschiedenen Puffersysteme des Körpers werden jedoch ständig beansprucht, um die Entstehung einer akuten Azidose zu verhindern (Goedecke und Vormann 2006). In vivo und in vitro Studien zeigen, dass auch der Knochen ein wichtiges Puffersystem darstellt, um den Blut pH Wert konstant zu halten (Arnett 2003; Burton 1992; Bushinsky et al. 1993a; Bushinsky et al. 1993b; Bushinsky 1996; Bushinsky et al. 1999; Bushinsky 2001; Bushinsky and Lechleider 1987; Eiam-ong and Kurtzman 1994; Green and Kleeman 1991; Krieger et al. 2003; Krieger et al. 2004; Lemann, Jr. et al. 2003; Lennon et al. 1966; New 2002). Durch Ionenaustauschprozesse und das Ablösen von Mineralstoffen von der Knochenoberfläche (Calciumcarbonat, Calciumphosphat), gefolgt von einer gesteigerten Osteoklasten- und einer gehemmten Osteoblasten-Aktivität, versucht der Knochen, eine systemische Azidose zu korrigieren (Bushinsky 2001). Selbst kleinste pH Wert-Erniedrigungen im physiologischen Bereich konnten im in vitro Versuch eine Verdopplung der Knochenresorption verursachen (Arnett und Spowage 1996). Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass Veränderungen im Säure-Basen Haushalt (pH Wert-Erniedrigung von 0,02 (Studie 1), Bikarbonat-Konzentrations-Erniedrigung von 1,5 (Studie 1) und 1,2 (Studie 2)) auf systemischer Ebene, wie wir sie gemessen haben, aus weitaus größeren Veränderungen im Gewebe resultieren, welche nicht gemessen werden konnten.

Auch Untersuchungen am Menschen zeigen eine Assoziation zwischen einer „natürlich erzeugten“, z.B. durch Fasten (Grinspoon et al. 1995), einer pathologischen, z.B. diabetische Ketoazidose (Topaloglu et al. 2005) und einer experimentell erzeugten durch Ammoniumchlorid Gabe (Lemann, Jr. et al. 1966) Azidose mit einer Hypercalciurie und einer negativen Calciumbilanz. Des Weiteren ist derzeit ausreichend bekannt, dass die Erkrankung der renalen tubulären Azidose mit

Knochenerkrankungen und erniedrigter Knochenmasse und -dichte assoziiert ist, wobei eine Alkalitherapie die Knochenmasse dieser Patienten erhöht und die Knochenmineraldichte verbessert (Disthabanchong et al. 2004; Domrongkitchaiporn et al. 2002; Eiam-ong and Kurtzman 1994; Fulop und Mackay 2004). Neuere Studien belegen in dieser Hinsicht, dass auch eine säurebildende Ernährung, bestehend aus vielen proteinhaltigen Lebensmitteln, Getreideprodukten und wenig Obst und Gemüse, den Calcium- und Knochenstoffwechsel negativ beeinflusst (Buclin et al. 2001; Macleay et al. 2004). Eine Gabe von alkalischen Kaliumsalzen hingegen reduziert die Calciumexkretion (Bell et al. 1992; Lemann, Jr. et al. 1989; Lemann, Jr. et al. 1991; Morris, Jr. et al. 1999) und verbessert vermutlich über kleinste pH Wert- (0.02) und Bikarbonaterhöhungen (1,8 mmol/L) die Knochenmineralbilanz, wie Sebastian et al. (Sebastian et al. 1994) in einer Studie an postmenopausalen Frauen zeigten. Insgesamt ist die Rolle von Natriumchlorid in der Ernährung, als weiterer Auslöser einer Azidose, derzeit jedoch noch umstritten (Macleay et al. 2004). Nur Sharma et al. (Sharma et al. 1990) zeigten bislang, dass salzsensitive Personen nach einer Woche hoher Kochsalzzufuhr (220 mmol) sowohl einen erniedrigten arteriellen pH Wert als auch eine erniedrigte Bikarbonatkonzentration aufwiesen. Einen indirekten Einfluss des Säure-Basen Haushalts zeigte auch eine Studie von Sellmeyer et al. (Sellmeyer et al. 2002), die belegt, dass eine Kaliumcitrat Supplementation die Exkretion der Knochenresorptionsmarker bei postmenopausalen Frauen mit hoher Kochsalzzufuhr senken kann.

Unter der Annahme, dass Kochsalz den Säure-Basen Haushalt verändert, stellt sich nun zum einen die Frage, über welche Mechanismen dies zu einem erhöhten Knochenabbau führen kann und wie es zu einem erniedrigtem pH Wert bzw. einer erniedrigten Bikarbonatkonzentration, ausgelöst durch eine hohe Kochsalzzufuhr, kommt. Bezugnehmend zur ersten Frage können aus physiologischer Sicht mehrere Mechanismen beteiligt sein. Die folgenden Ausführungen und die Abbildung 19 sollen die denkbaren Möglichkeiten genauer charakterisieren.

- 1 Die auftretende latente metabolische Azidose induziert über eine Stimulierung der Osteoklasten die Knocheresorption und hemmt die Knochenformation, wie u.a. in vivo bei azidotischen Zuständen von Bushinsky und Frick (2000) und Arnett (2003) beschrieben (Arnett 2003; Bushinsky und Frick 2000). In diesem Fall wäre die gestiegene Calciumexkretion als eine Folge des Kochsalzinduzierten erhöhten Knochenabbaus anzusehen (siehe Abbildung 19, Weg 1).
- 2 Die auftretende latente metabolische Azidose hemmt die distale Reabsorption von Calcium, was eine erhöhte renale Calciumexkretion zur Folge hat (Alpern und Sakhaee 1997). Zur Aufrechterhaltung der Plasma-Calcium-Konzentration käme es über eine PTH-Steigerung zu einem erhöhten Knochenabbau. Hier wäre die Calciurie als die Ursache des Kochsalzinduzierten erhöhten Knochenabbaus anzusehen (siehe Abbildung 19, Weg 2).
- 3 Falls es trotz beobachtetem unveränderten PTH-Spiegel dennoch zu einem postprandialen PTH-Anstieg aufgrund einer Kochsalzinduzierten Calciurie kommt, kann die latente metabolische Azidose auch eine Folge eines kurzzeitigen PTH-Anstieges sein und über diesen Weg eine erhöhte Knochenresorption verursachen (siehe Abbildung 19, Weg 3). Denn eine bereits bekannte Wirkung von PTH ist die Induzierung einer metabolischen Azidose über eine Verringerung der tubulären Bikarbonatreabsorption (Peacock 2002; Rodman und Heinemann 1975).
- 4 Zur Vervollständigung der möglichen Mechanismen sei die direkte Natriuminduzierte erhöhte renale Calciumexkretion - ohne Beteiligung des Säure-Basen Haushalts - als Ursache einer Kochsalzinduzierten erhöhten Knochenresorption zu erwähnen (siehe Abbildung 19, Weg 4).

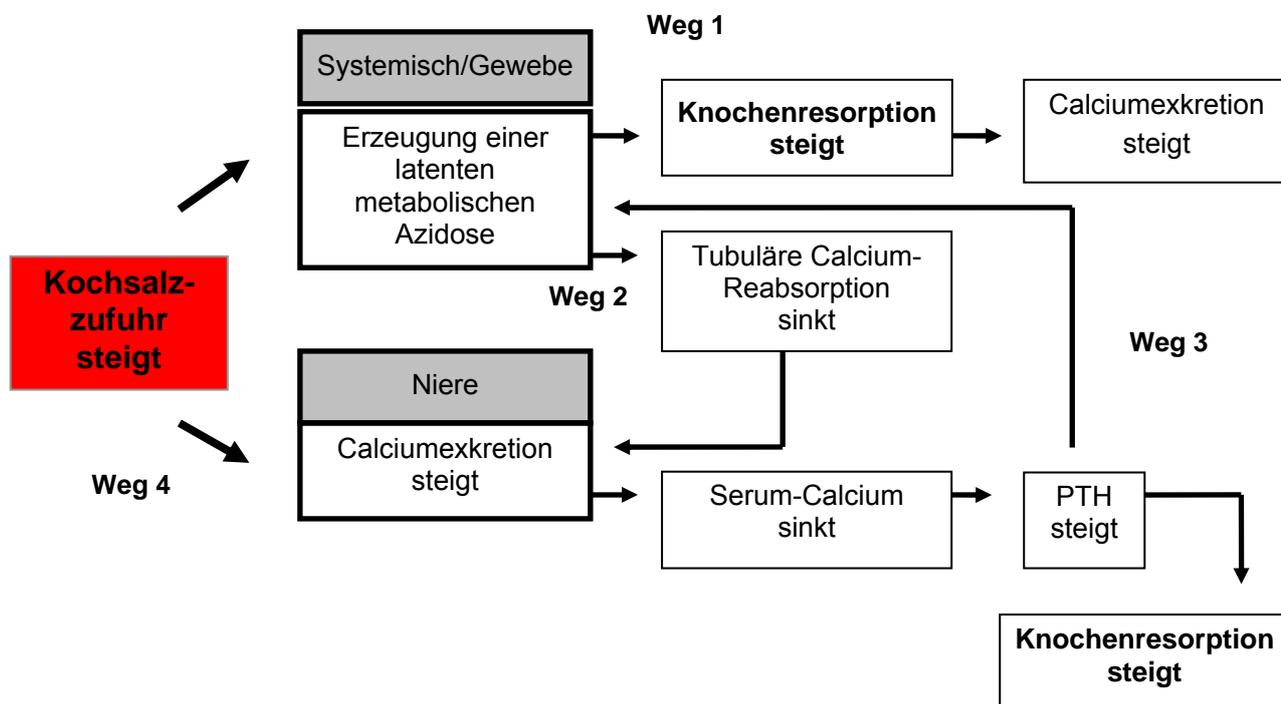


Abbildung 19: Schema möglicher Mechanismen, die an der Entstehung einer kochsalzinduzierten gesteigerten Knochenresorption beteiligt sein können.

Damit bleibt die Frage offen, wie Kochsalz eine latente metabolische Azidose auslösen kann, falls eine PTH-Erhöhung nicht als die Ursache dafür anzusehen ist. Eine erniedrigte Bikarbonatkonzentration ist die „primäre Abnormalität“ einer metabolischen Azidose und kann verschiedene Ursachen haben: 1) eine unzureichende Ausscheidung von täglich gebildeten metabolischen Säuren über die Niere, 2) eine erhöhte H^+ -Ionen-Produktion im Körper, 3) eine erhöhte Zufuhr an Säuren mit der Nahrung oder per Infusion, 4) ein Verlust an Basen über Körperflüssigkeiten (z.B. bei Diarrhö) (Guyton and Hall 2000a; Scheid 2003). Punkt 3 kann durch die Berechnung des PRAL Wertes der Diät (Remer 2000), der eine insgesamt basenbildende Diät in beiden Studien belegt, vernachlässigt werden. Da es sich um gesunde Probanden handelte, kann ebenfalls eine krankheitsbedingter Verlust an Basen oder ein Defekt der renalen Ausscheidung ausgeschlossen werden. Übrig bliebe eine erhöhte H^+ -Ionen-Produktion im Körper. Eine erhöhte H^+ -Ionen Konzentration könnte z.B. aus einer Aktivierung des Na^+/H^+ -Austauschers

resultieren. Na^+/H^+ -Austauscher sind ubiquitär vorkommende Proteine, welche den Austausch von intrazellulären Protonen gegen extrazelluläre Na^+ -Ionen über Plasma- und Organellmembranen katalysieren (Bobulescu et al. 2005; Dusing et al. 1994). Gobel et al. (Gobel et al. 1994) untersuchten die Lymphozyten-Antiporter-Aktivität bei Kochsalzzufuhren zwischen 20 und 300 mmol an normotensiven Freiwilligen und fanden nach einer Woche Diät eine erhöhte Aktivität des Na^+/H^+ -Antiporters bei einer Zufuhr von 300 mmol NaCl. Andere Membrantransportsysteme, wie z.B. die Na^+/K^+ -ATPase, blieben in ihrer Aktivität unverändert. Auch Kessler et al. (Kessler et al. 1997) und Dusing et al. (Dusing et al. 1994) beobachteten bei gesunden Versuchspersonen nach 2-stündiger Infusion einer isotonen und hypertonen Kochsalzlösung eine erhöhte Na^+/H^+ -Antiporter-Aktivität in den Lymphozyten, die von einer cytosolischen Alkalisierung und einer extrazellulären Ansäuerung (erniedrigter pH, Bikarbonat und Base Excess) begleitet war. Die Ursache dieser erhöhten Aktivität ist jedoch weitgehend ungeklärt (Gobel et al. 1994).

Eine weitere theoretische Möglichkeit einer erhöhten H^+ -Ionen Konzentration stellt die Verbindung zur osmotisch inaktiven Natriumspeicherung an Glycosaminoglykanen her. GAGs könnten aufgrund ihrer negativen Ladungsdichte als potentielle Ionenaustauscher fungieren (Chakrabarti und Park 1980; Farber 1960; Lamberg und Stoolmiller 1974; Schafflhuber et al. 2007) und somit das Natrium im Austausch mit Protonen binden. Die Folge wäre eine erhöhte H^+ -Ionen-Konzentration in der Umgebung, welche zu einem erhöhten Verbrauch an körpereigenen Puffersystemen und/oder einer Abnahme des systemischen pH Wertes führen könnte.

Unabhängig von einer erhöhten Protonen-Produktion lieferte die Berechnung der Anionen Lücke, die auf eine hyperchlorämische metabolische Azidose hindeutet, einen Hinweis darauf, dass eine erniedrigte Bikarbonatkonzentration aufgrund einer erhöhten Chloridionenkonzentration im Serum entstand. Auch eine Studie von Gobel et al. (Gobel et al. 1994) konnte eine signifikant erhöhte Chloridionenkonzentration bei hoher Kochsalzzufuhr im Blut beobachten. Da kein anderes Elektrolyt signifikante Veränderungen aufwies, könnte die Ursache der absinkenden Bikarbonatkonzentration dann lediglich in der Wahrung der Elektroneutralität zu

sehen sein. Nach genauerer Betrachtung der Ergebnisse von Studie 1 kann dies jedoch nicht die alleinige Ursache sein, da Studie 1 zeigt, dass die Bikarbonatkonzentration von Phase 2 zu Phase 3 trotz konstanter Chloridionenkonzentration weiter sank. Diese Ergebnisse untermauern dennoch die Annahme, dass nicht allein das Natriumion, sondern dass auch das Chloridion eine entscheidende Rolle zu spielen scheint. Die Erhöhung der Natriumzufuhr erfolgte sowohl in den durchgeführten als auch in den bislang publizierten Studien hauptsächlich durch eine Erhöhung der Natriumchlorid-, also der Kochsalzzufuhr, da auch in der üblichen Ernährungsweise Natrium vorwiegend in Form von Kochsalz aufgenommen wird. In unseren Studien enthielt die Diät nahezu gleiche Mengen an Natrium und Chlorid. Bell et al. (Bell et al. 1992) testeten den calciuretischen Effekt von NaCl (102 mmol/Tag) - im Vergleich zu Kaliumchlorid (KCl) (104 mmol/Tag) - an elf jungen Studentinnen unter kontrollierten Bedingungen. Die renale Calciumexkretion stieg lediglich während der NaCl-Supplementation, aber nicht während der KCl-Supplementation. Man schloss daraus, dass nicht das Chloridion, sondern das Natriumion für den calciuretischen Effekt von Kochsalz verantwortlich ist. Es gibt jedoch andere Studien, die zeigen, dass das Chloridion nicht unbeteiligt ist, denn eine erhöhte Zufuhr von Natriumbikarbonat und Natriumcitrat führte, im Vergleich mit NaCl, nicht zu einer gesteigerten renalen Calciumausscheidung (Kurtz et al. 1987; Lemann, Jr. et al. 1989). Kurtz et al. (Kurtz et al. 1987) demonstrierten, dass 240 mmol NaCl/Tag die Calciumexkretion bei salzsensitiven Individuen erhöhte, dass aber die gleiche Menge Natriumcitrat keinen calciuretischen Effekt zur Folge hatte. Das Natriumion hat offensichtlich nur einen Einfluss auf die Calciumexkretion, wenn es mit einem Chloridion verbunden ist und umgekehrt das Chloridion nur in Verbindung mit einem Natriumion. Beide Ionen in Kombination in Form von Kochsalz sind also vermutlich an der Entstehung der gesteigerten renalen Calciumausscheidung und am Einfluss auf den Knochenstoffwechsel sowie den Säure-Basen Haushalt beteiligt, wie auch Barzel und Zarkadas et al. (Barzel 1997; Zarkadas et al. 1989) vermuteten.

Als weiterer wichtiger Parameter des Säure-Basen Haushaltes gilt der 24-h Urin pH Wert. Die beobachtete Erhöhung des pH Wertes entsprach nicht den Erwartungen

von einem ebenfalls sinkenden pH Wert im Urin. Als mögliche Ursache hierfür wäre denkbar, dass es durch die notwendige Regeneration von Bikarbonat in der Niere zu einem erhöhten H^+ -Verbrauch kommt, welcher für die Rückgewinnung von Bikarbonat benötigt wird (Guyton and Hall 2000a). Des Weiteren zeigte die PRAL Berechnung nach Remer et al. (Remer 2000), dass die Diät mit hoher Kochsalzzufuhr mehr Basenvorläufer aufwies als die Diät mit niedriger Kochsalzzufuhr, was ebenfalls einen höheren Urin pH Wert zur Folge haben könnte. Auch die Veränderungen im Knochenstoffwechsel könnten eine Rolle spielen, indem die vermehrt negativ geladenen Ionen, die aus einer erhöhten Knochenresorption resultieren (OH^- und PO_3^{4-} aus dem Abbau von Hydroxyapatit), H^+ -Ionen in der Niere gebunden haben und somit den Urin pH Wert, der ein Maß für die freien H^+ -Ionen darstellt, erhöht haben. Um ein genaueres Bild zu erhalten ist es notwendig, in weiteren Studien die Ammoniumkonzentration als Maß für die Menge gebundener H^+ -Ionen (Guyton and Hall 2000a) sowie die Gesamtmenge an organischen Säuren im Urin zu bestimmen.

Die Veränderungen im Knochenstoffwechsel und im Säure-Basen Haushalt im Zusammenhang betrachtet, lassen - basierend auf den obigen Ausführungen - demnach den Schluß zu, dass eine kochsalzinduzierte erhöhte Knochenresorption vermutlich durch Erzeugung einer latenten metabolischen Azidose verursacht ist. Kochsalz als Ursache der beobachteten Veränderungen zu betrachten, wird in Studie 1 zusätzlich dadurch belegt, dass nahezu alle Parameter der Knochenresorption und des Säure-Basen Haushaltes nach Reduktion der Kochsalzzufuhr in Studienphase 4 ihr Ausgangsniveau wieder erreichten. Obwohl theoretisch eine Verbindung zur osmotisch inaktiven Natriumspeicherung bestehen kann, konnten wir diesen Zusammenhang nicht nachweisen. Aus der Betrachtung der Einzelergebnisse der Probanden geht hervor, dass auch die beiden Probanden, die kein Natrium speicherten, eine Reduktion der Bikarbonatkonzentration sowie eine erhöhte renale Calciumexkretion und Knochenresorption aufwiesen.

Als wichtig für die tägliche Praxis bleibt festzuhalten, dass eine hohe Kochsalzzufuhr den Knochenstoffwechsel negativ beeinflussen kann. Dies ist sowohl für die Allgemeinbevölkerung als auch für die Berufsgruppe der Astronauten aufgrund einer

erhöhten Kochsalzzufuhr sowie zusätzlichen negativen Einflüssen auf den Knochenstoffwechsel, wie z.B. die fehlende Schwerkraft im All von entscheidender Bedeutung.

Besonders zu beachten in beiden Studien ist jedoch, dass eine erhöhte Knochenresorption aufgrund einer hohen Kochsalzzufuhr, trotz der in der Literatur widersprüchlichen Ergebnisse, eindeutig gezeigt werden konnte. Ursachen hierfür liegen vor allem in der Höhe der gewählten Kochsalzzufuhr, aber auch in dem im Vergleich zu anderen Studien strikt standardisiertem Studiendesign. Studienkritik an anderen Studien rührt daher, dass entweder die Natriumzufuhr und/oder die Natriumausscheidung nicht exakt genug erfasst wurden (Carbone et al. 2003; Carbone et al. 2005; Greendale et al. 1994; Jones et al. 1997; Jones et al. 2001), die Natriumzufuhr zu niedrig gewählt wurde (Lietz et al. 1997), die Studiendauer zu kurz war oder andere den Knochenstoffwechsel beeinflussende Faktoren (z.B. Vitamin D, Phosphor, Koffein, Protein, körperliche Aktivität) (Heaney et al. 2000; Hunter et al. 2001; Molgaard et al. 2001) nicht ausreichend genug in Betracht gezogen bzw. kontrolliert werden konnten (Carbone et al. 2005; Lietz et al. 1997; Natri et al. 2005). Die durchschnittliche Natriumzufuhr kann nicht, wie in einer epidemiologischen Studie von Greendale et al. (Greendale et al. 1994) beschrieben, mit Hilfe von gewöhnlichen Ernährungsfragebögen erfasst werden, da diese Methode das Salz während des Kochens und des Zusatzens am Tisch, sowie den stark schwankenden Gehalt von Natrium in Fertigprodukten, nicht exakt erfasst (Massey and Whiting 1996). Matkovic et al. (Matkovic et al. 1995) zeigten mittels einer Regressionsgeraden, dass Ernährungsprotokolle eine sehr geringe Aussagekraft haben, um die Natriumausscheidung zu schätzen (Regressionskoeffizient: 0,212).

Auch das Heranziehen von 24-h Urinen zur Abschätzung der Natriumzufuhr kann nicht, wie in vielen Studien praktiziert (Carbone et al. 2003; Chan et al. 1992; Devine et al. 1995; Itoh et al. 1999; Itoh and Suyama 1996; Jones et al. 1997; Jones et al. 2001; Martini et al. 2000; Matkovic et al. 1995), nur durch einen einzigen 24-h Urin erfolgen, da die Tag-zu-Tag-Variation der Natriumzufuhr viel zu groß ist (Frost et al. 1991). Schon Luft et al. (Luft et al. 1982) schätzten, dass mindestens neun 24-h Urine benötigt werden, um die Natriumzufuhr von epidemiologisch untersuchten

Personen zu bestimmen. Auch die Aussagekraft der gewählten Biomarker des Knochenstoffwechsels in den aufgeführten Studien ist von entscheidender Bedeutung. In früheren Studien wurde hauptsächlich der Knochenmarker Hydroxyprolin untersucht (Chan et al. 1992; Goulding 1981; Itoh and Suyama 1996; McParland et al. 1989). Die Eignung von Hydroxyprolin als Marker für die Knochenresorption wird jedoch wegen fehlender Spezifität und Sensitivität in Frage gestellt und die Veränderungen in der Hydroxyprolin-Ausscheidung müssen nicht unbedingt Veränderungen im Knochenstoffwechsel reflektieren, sondern können auch anderen Ursprungs, z.B. aus dem Bindegewebe, oder durch einen veränderten Hydroxyprolin Leber Katabolismus (Lietz et al. 1997), sein. Zusätzlich wurde bei vielen dieser Studien die diätetische Hydroxyprolinzufuhr über kollagenhaltige Lebensmittel nicht kontrolliert obwohl bekannt ist, dass dies die Hydroxyprolin-Ausscheidung beeinflusst (Delmas 1992; Kivirikko 1970; Massey and Whiting 1996). Man kann also festhalten, dass Studien mit direkten Effekten von Natrium auf den Knochen überschattet sind mit methodischen Problemen, wie auch schon Natri et al. (Natri et al. 2005) darstellten. Es werden Interventionsstudien benötigt, die die Natriumzufuhr exakt erfassen, andere den Knochenstoffwechsel beeinflussende Faktoren (Calciumzufuhr, Vitamin D-Status, Temperatur, körperliche Aktivität etc.) kontrollieren, aussagekräftige Knochenmarker zur Auswertung heranziehen und wiederholte Messungen durchführen.

Entscheidend für einen kochsalzbedingten Knochenverlust ist sicherlich, wie bereits erwähnt, die Höhe der Kochsalzzufuhr, die in unseren Studien weitaus höher gewählt war als die durchschnittliche Kochsalzzufuhr in Deutschland. Wir wählten diese sehr hohe Zufuhr zum einen, weil einzelne Astronauten im All durchaus Mengen in dieser Größenordnung aufnehmen (Heer et al. 2000b) und zum anderen, um den Mechanismus, der den Einfluss von Kochsalz auf den Knochenstoffwechsel bedingt, in einer relativ kurzen Studiendauer zu erfassen. Aus den Daten der Studie 1 erkennt man jedoch, dass der Knochenabbaumarker NTX bereits in Phase 2 bei Zufuhr einer normal üblichen Kochsalzmenge von 2,8 mmol/kgKG/Tag innerhalb nur einer Woche tendenziell ($p = 0,055$) anstieg. Eine lebenslange Zufuhr in dieser Höhe könnte demnach insbesondere bei Risikogruppen, die sich nicht an eine erhöhte

Calciumexkretion anpassen können (ältere Menschen mit reduzierter intestinaler Calciumabsorption, postmenopausale Frauen, Personen mit beeinträchtigter PTH-Funktion oder niedrigem Vitamin D-Status) (Shortt und Flynn 1990) oder durch veränderte Umgebungsbedingungen per se eine erhöhte Knochenresorption aufweisen z.B. Astronauten von Nachteil in Bezug auf den Knochenstoffwechsel sein. Da die Knochenerkrankung Osteoporose immer mehr an Bedeutung gewinnt, sollte diesem Forschungsfeld weiterhin große Aufmerksamkeit gewidmet werden. Es wird vorausgesagt, dass mehr als 50% der Frauen und mehr als 20% der Männer älter als 50 Jahre eine Knochenfraktur in ihrem verbleibendem Leben erleiden werden (Sambrook und Cooper 2006). Die Kosten für alle osteoporotischen Frakturen werden gegenwärtig auf mehr als 30 Milliarden geschätzt. Diese Ausgaben werden sich in den nächsten Jahrzehnten mehr als verdoppeln (Kanis und Johnell 2005). In der Vergangenheit wurde dieser Erkrankung vor allem bei Frauen besondere Aufmerksamkeit gewidmet, da es bei Frauen nach dem Eintreten der Menopause aufgrund des Östrogenverlustes zu einem verstärkten Knochenabbau kommt. Die Osteoporose des Mannes wurde erst in den letzten Jahren näher untersucht. Epidemiologische Studien lassen den Schluss zu, dass auch 15-30% aller Männer im Laufe ihres Lebens eine osteoporotische Fraktur erleiden werden (Cooper et al. 1992).

Durch die Beteiligung des Säure-Basen Haushaltes, die in beiden Studien festgestellt wurde, ergibt sich ein neues Feld von Gegenmaßnahmen, die einem kochsalzbedingten Knochenverlust entgegenwirken können, wie z.B. die Gabe von alkalischen Mineralsalzen. Die einfachste Möglichkeit ist sicherlich die Reduktion der Kochsalzzufuhr über die Ernährung. Eine natriumarme Ernährung ist für den Normalverbraucher jedoch schwierig in die Praxis umzusetzen, da viele industriell hergestellte Lebensmittel hohe Natriumchloridmengen enthalten und somit eine einschneidende Ernährungsumstellung für viele Menschen bedeuten würde. Des Weiteren ist die „Compliance“ bei salzarmen Diäten als sehr negativ anzusehen, da Kochsalz ein großer Geschmacksträger ist. Bezüglich der Ernährung von Astronauten bestünde die Möglichkeit, den Kochsalzgehalt in der Weltraumnahrung zu reduzieren und/oder die Zufuhr an alkalisch wirkenden Mineralien zu erhöhen.

Aufgrund des gleichzeitig vorherrschenden Kaliummangels in der heutigen Zeit (Frassetto et al. 2001) bietet sich Kaliumbikarbonat oder Kaliumcitrat daher als Nahrungsergänzung an.

Um diese Maßnahmen zu verwirklichen, bedarf es sicherlich weiterer Forschung auf diesem Themengebiet mit folgenden möglichen Fragestellungen:

1. Kann die Gabe eines Alkalisalzes (Kaliumbikarbonat/Kaliumcitrat) die durch hohe Kochsalzzufuhr bedingte gesteigerte Knochenresorptionsrate mindern?
2. Wie verändern sich Knochendichte und/oder Frakturrisiko nach längerer hoher (> 200 mmol/Tag) Kochsalzzufuhr?

Bezüglich der Art der Natriumspeicherung ist es sicherlich ebenfalls sinnvoll weitere Studien durchzuführen, die zum Verständnis des Mechanismus einer osmotisch inaktiven Speicherung beitragen. Ein anderes Studiendesign, wie z.B. Untersuchungen der Natrium- und Kaliumbilanzen bei nicht limitierter Wasserzufuhr, wäre denkbar. Auch genetische Untersuchungen an großen Probandenkollektiven, die Natrium speichern oder eben nicht speichern, würden weitere wichtige Erkenntnisse für das Verständnis der Natriumregulation liefern. Ob die osmotisch inaktive Speicherung am Einfluss von Kochsalz auf den Knochenstoffwechsel beteiligt ist, bleibt weiterhin zu erforschen.

Zusammengefasst liefern die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Studien folgende Ergebnisse:

Eine hohe Kochsalzzufuhr von 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag über eine Dauer von 10 bzw. 14 Tagen, führte bei ambulanten Probanden zu einer osmotisch inaktiven Natriumspeicherung von ca. 60%, während Natrium bei immobilisierten Probanden auch osmotisch neutral im Austausch gegen Kalium gespeichert werden konnte. Diese Ergebnisse erweitern das Verständnis der Natriumregulation und zeigen eindeutig, dass Natrium nicht nur osmotisch aktiv gespeichert wird, sondern dass auch eine osmotisch inaktive bzw. osmotisch neutrale Art der Speicherung möglich ist. Die festgestellte Speicherungsart kann jedoch nicht verallgemeinert werden, da es sowohl große individuelle, dosisabhängige als auch situationsabhängige Unterschiede gibt. In Bezug auf den Knochenstoffwechsel zeigen die Ergebnisse

eine Kochsalzbedingte erhöhte Knochenresorption, die vermutlich durch die Erzeugung einer hyperchlorämischen latenten metabolischen Azidose hervorgerufen wird und nicht in direktem Zusammenhang zu einer osmotisch inaktiven Natriumspeicherung steht. Eine hohe Kochsalzzufuhr kann daher als negativ für den Knochen betrachtet werden, was vor allem für Bevölkerungsgruppen, die zusätzlichen negativen Bedingungen für den Knochen ausgesetzt sind (z.B. fehlende Schwerkraft bei Astronauten, mangelnde körperliche Bewegung, geringe Calcium- und Vitamin D-Zufuhr in der Allgemeinbevölkerung) ein Problem darstellt. Durch die Beteiligung des Säure-Basen Haushaltes ergibt sich ein neues Feld an möglichen Gegenmaßnahmen, falls aus unterschiedlichen Gründen eine Reduktion der Kochsalzzufuhr nur schwierig zu erreichen ist.

6 Zusammenfassung

Einleitung: Neuere Untersuchungen metabolischer Bilanzstudien zeigen, dass Natrium bei hoher Kochsalzzufuhr (Natriumchlorid, NaCl) (≥ 400 mmol NaCl/Tag) entgegen der gängigen Lehrbuchmeinung, dass eine Natriumspeicherung mit einer Flüssigkeitsretention einhergeht (Guyton and Hall 2000b), eingelagert wird ohne gleichzeitig Flüssigkeit zu retinieren (Heer et al. 2000a). Experimente im Weltraum zeigten ähnliche Ergebnisse bereits bei einer Zufuhr von 180 mmol NaCl/Tag (Drummer et al. 2000). Inwiefern diese Art der Speicherung osmotisch inaktiv oder osmotisch neutral erfolgt, wird in der Literatur aktuell diskutiert (Schafflhuber et al. 2007; Seeliger et al. 2006). Weiterhin ist bekannt, dass eine hohe Kochsalzzufuhr aufgrund der calciuretischen Wirkung als ein Risikofaktor für die Entstehung einer Osteoporose angesehen wird. Der bislang in der Literatur am häufigsten vermutete Mechanismus, welcher den Einfluss von Kochsalz auf den Knochen bedingt, betrachtet einen sinkenden Serumcalciumspiegel als direkte Folge der calciuretischen Wirkung. Eine darauffolgende Parathormonausschüttung bewirkt demnach die durch Kochsalz zu beobachtende Stimulation der Knochenresorption. Diese erhöhte PTH-Aktivität konnte bisher jedoch nicht eindeutig bestätigt werden (Evans et al. 1997). Potentielle andere Mechanismen, die den Einfluss von Kochsalz auf den Knochen bedingen können, sind im Säure-Basen Haushalt zu finden, die im Falle einer metabolischen Azidose ebenfalls zu einer Aktivierung der Knochenresorption führen können (Arnett 2003).

Ziel: In der vorliegenden Arbeit wurde daher der Einfluss einer hohen Kochsalzzufuhr zum einen auf die Art der Natriumspeicherung und zum anderen auf den Knochenstoffwechsel unter Einbeziehung von Veränderungen im Säure-Basen Haushalt bei ambulanten (Studie 1) und immobilisierten (Studie 2) Probanden untersucht.

Methode: In Studie 1 wurden 9 männliche, gesunde Probanden ($\bar{\text{Ø}} 25,6 \pm 3,1$ Jahre; $71,5 \pm 4,0$ kg) über einen Zeitraum von 28 Tagen im Stoffwechsellabor des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt (DLR), im Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin untersucht. Die Studie gliederte sich in 4 Studienphasen mit unterschiedlicher Kochsalzzufuhr. Während der ersten sechs Tage erhielten die

Probanden eine Zufuhr von 0,7 mmol NaCl/kgKG/Tag, in den nächsten sechs Tagen 2,8 mmol NaCl/kgKG/Tag, in den darauf folgenden 10 Tagen 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag und in den letzten sechs Tagen wiederum 0,7 mmol NaCl/kgKG/Tag. In Studie 2 wurden 8 männliche, gesunde Probanden (\bar{x} 26,3 \pm 3,5 Jahre; 78,5 \pm 4,1 kg) über einen Zeitraum von 21 Tagen im Stoffwechsellabor des DLR unter simulierter Schwerelosigkeit (Bettruhe mit 6° Kopftieflage, HDTBR) untersucht. Die Studie untergliederte sich in zwei im cross-over Design zu durchlaufende Experimententeile. Jeder Experimententeil wurde in eine 4-tägige Adaptationsphase (aufrecht und 2,8 mmol NaCl/kgKG/Tag), eine 14-tägige Interventionsphase (HDTBR und 0,7 mmol NaCl/kgKG/Tag oder 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag) und eine 3-tägige Erholungsphase (aufrecht und 2,8 mmol NaCl/kgKG/Tag) unterteilt. In beiden Studien wurde die Art der Natriumspeicherung durch die Erstellung täglicher metabolischer Bilanzen des Natrium-, Wasser- und Kaliumhaushaltes und durch Körpergewichtsveränderungen untersucht. Der Einfluss von Kochsalz auf den Knochenstoffwechsel wurde durch die Bestimmung von Knochenformationsmarkern (bAP, Ocal, PINP) im Serum, der renalen Calciumexkretion (UCa) und den Knochenresorptionsmarkern (CTX, NTX) im Urin während der Phasen mit unterschiedlicher Kochsalzzufuhr bestimmt. Analysen im Säure-Basen Haushalt mittels Blutgasanalyse (pH, PO₂, PCO₂, Bikarbonat, Base Excess) und pH im 24-h Urin (nur Studie 2) sollten Aufschluss über gleichzeitige Veränderungen im Säure-Basen Haushalt geben.

Ergebnisse: In beiden Studien kam es im Mittel bei hoher Kochsalzzufuhr zu einer Speicherung von Natrium von 290 \pm 226 mmol (Studie 1) bzw. 335 \pm 266 mmol (Studie 2). Sie äußerte sich unter ambulanten Bedingungen als vorwiegend osmotisch inaktiv ohne gleichzeitige Wasserretention und Kaliumexkretion, während sie in Kopftieflage im Mittel, aufgrund einer negativen Kaliumbilanz in den ersten 3 Kopftieflagetagen, zu einem großen Anteil mit einem Austausch von Kalium zu erklären war. Hohe Kochsalzzufuhr führte sowohl bei ambulanten als auch bei immobilisierten Probanden zusätzlich zu einem Anstieg der renalen Calciumexkretion auf 6,51 \pm 1,29 mmol/Tag (Studie 1: p < 0,001) und 8,26 \pm 2,12 mmol/Tag (Studie 2: p < 0,001), zu einem Anstieg der Exkretion der Knochenresorptionsmarker CTX

(Studie 1: $p < 0,001$; Studie 2: $p < 0,001$) und NTX (Studie 1: $p < 0,001$; Studie 2: $p < 0,001$). Die Knochenformationsmarker blieben weitgehend konstant und zeigten keine Kochsalzbedingte Abhängigkeit. Steigende Kochsalzzufuhr führte zudem in beiden Studien bei unverändertem PO_2 ($p = 0,57$) und PCO_2 ($p = 0,07$), zu einem sinkenden pH Wert in Studie 1 ($p = 0,008$), einer sinkenden Bikarbonatkonzentration (Studie 1: $p < 0,001$; Studie 2: $p < 0,0175$) sowie einem sinkenden Base Excess (Studie 1: $p < 0,001$; Studie 2: $p = 0,0093$), charakterisierbar als hyperchlorämische latente metabolische Azidose.

Schlussfolgerung: Eine hohe Kochsalzzufuhr von 7,7 mmol NaCl/kgKG/Tag über einen Zeitraum von 10 bzw. 14 Tagen führt bei ambulanten Probanden zu einer osmotisch inaktiven Natriumspeicherung von ca. 60%, während Natrium bei immobilisierten Probanden auch osmotisch neutral im Austausch gegen Kalium gespeichert werden kann. Eine Natriumspeicherung erfolgt also nicht immer vollständig osmotisch aktiv, sondern kann auch osmotisch inaktiv oder osmotisch neutral erfolgen. Die Verteilung auf diese 3 Arten der Speicherung kann individuell und situationsbedingt sehr unterschiedlich sein. In Bezug auf den Knochenstoffwechsel zeigen die Ergebnisse eine Kochsalzbedingte erhöhte Knochenresorption, die vermutlich durch die Erzeugung einer hyperchlorämischen latenten metabolischen Azidose hervorgerufen wird und nicht in direktem Zusammenhang mit einer osmotisch inaktiven Natriumspeicherung steht. Kochsalz kann daher als ein Risikofaktor für die Entstehung einer Osteoporose angesehen werden, dem möglicherweise durch die ausreichende Zufuhr an alkalischen Mineralsalzen entgegengewirkt werden kann.

7 Literaturverzeichnis

Alhava EM, Juuti M, Karjalainen P (1976). Bone mineral density in patients with urolithiasis. A preliminary report. *Scand J Urol Nephrol* 10: 154-156

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

Andrews B (1997). Bodily shame in relation to abuse in childhood and bulimia: a preliminary investigation. *Br J Clin Psychol* 36: 41-49

Annat G, Guell A, Gauquelin G, Vincent M, Mayet MH, Bizollon CA, Legros JJ, Pottier JM, Gharib C (1986). Plasma vasopressin, neurophysin, renin and aldosterone during a 4-day head-down bed rest with and without exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 55: 59-63

Arnett T (2003). Regulation of bone cell function by acid-base balance. *Proc Nutr Soc* 62: 511-520

Arnett TR, Spowage M (1996). Modulation of the resorptive activity of rat osteoclasts by small changes in extracellular pH near the physiological range. *Bone* 18: 277-279

Audran M, Legrand E (2000). Hypercalciuria. *Joint Bone Spine* 67: 509-515

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

Barzel US (1997). Anion effects on calcium metabolism. *J Bone Miner Res* 12: 298-299

Bataille P, Achard JM, Fournier A, Boudailliez B, Westeel PF, el Esper N, Bergot C, Jans I, Lalau JD, Petit J, . (1991). Diet, vitamin D and vertebral mineral density in hypercalciuric calcium stone formers. *Kidney Int* 39: 1193-1205

Bell RR, Eldrid MM, Watson FR (1992). The influence of NaCl and KCl on urinary calcium excretion in healthy young women. *Nutrit Res* 12: 17-26

Berkemeyer S, Remer T (2006). Anthropometrics provide a better estimate of urinary organic acid anion excretion than a dietary mineral intake-based estimate in children, adolescents, and young adults. *J Nutr* 136: 1203-1208

Bestle MH, Norsk P, Bie P (2001). Fluid volume and osmoregulation in humans after a week of head-down bed rest. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R310-R317

Bieglmayer C, Prager G, Niederle B (2002). Kinetic analyses of parathyroid hormone clearance as measured by three rapid immunoassays during parathyroidectomy. *Clin Chem* 48: 1731-1738

Biesalski HK, Grimm P (2002) Taschenatlas der Ernährung. Stuttgart, New York

Binder HJ, Sangan P, Rajendran VM (1999). Physiological and molecular studies of colonic H⁺,K⁺-ATPase. *Semin Nephrol* 19: 405-414

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

Bobulescu IA, Di Sole F, Moe OW (2005). Na⁺/H⁺ exchangers: physiology and link to hypertension and organ ischemia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 14: 485-494

Bollen AM, Kiyak HA, Eyre DR (1997). Longitudinal evaluation of a bone resorption marker in elderly subjects. *Osteoporos Int* 7: 544-549

Breslau NA, McGuire JL, Zerwekh JE, Pak CY (1982). The role of dietary sodium on renal excretion and intestinal absorption of calcium and on vitamin D metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 55: 369-373

Breslau NA, Sakhaee K, Pak CY (1985). Impaired adaptation to salt-induced urinary calcium losses in postmenopausal osteoporosis. *Trans Assoc Am Physicians* 98: 107-115

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

Burton RF (1992). The roles of intracellular buffers and bone mineral in the regulation of acid-base balance in mammals. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol* 102: 425-432

Bushinsky DA (1996). Metabolic alkalosis decreases bone calcium efflux by suppressing osteoclasts and stimulating osteoblasts. *Am J Physiol* 271: F216-F222

Bushinsky DA (2001). Acid-base imbalance and the skeleton. *Eur J Nutr* 40: 238-244

Bushinsky DA, Chabala JM, Gavrilov KL, Levi-Setti R (1999). Effects of in vivo metabolic acidosis on midcortical bone ion composition. *Am J Physiol* 277: F813-F819

Bushinsky DA, Frick KK (2000). The effects of acid on bone. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 9: 369-379

Bushinsky DA, Lam BC, Nespeca R, Sessler NE, Grynepas MD (1993a). Decreased bone carbonate content in response to metabolic, but not respiratory, acidosis. *Am J Physiol* 265: F530-F536

Bushinsky DA, Lechleider RJ (1987). Mechanism of proton-induced bone calcium release: calcium carbonate-dissolution. *Am J Physiol* 253: F998-1005

Bushinsky DA, Wolbach W, Sessler NE, Mogilevsky R, Levi-Setti R (1993b). Physicochemical effects of acidosis on bone calcium flux and surface ion composition. *J Bone Miner Res* 8: 93-102

Caillot-Augusseau A, Lafage-Proust MH, Soler C, Dubois F, Alexandre C (1998). Bone formation and resorption biological markers in cosmonauts during and after a 180-day spaceflight (Euromir 95). *Clin Chem* 44: 578-585

Caillot-Augusseau A, Vico L, Heer M, Voroviev D, Souberbielle JC, Zitterman A, Alexandre C, Lafage-Proust MH (2000). Space Flight Is Associated with Rapid Decreases of Undercarboxylated Osteocalcin and Increases of Markers of Bone Resorption without Changes in Their Circadian Variation: Observations in Two Cosmonauts. *Clin Chem* 46: 1136-1143

Carbone LD, Barrow KD, Bush AJ, Boatright MD, Michelson JA, Pitts KA, Pintea VN, Kang AH, Watsky MA (2005). Effects of a low sodium diet on bone metabolism. *J Bone Miner Metab* 23: 506-513

Carbone LD, Bush AJ, Barrow KD, Kang AH (2003). The relationship of sodium intake to calcium and sodium excretion and bone mineral density of the hip in postmenopausal African-American and Caucasian women. *J Bone Miner Metab* 21: 415-420

Castenmiller JJ, Mensink RP, van der HL, Kouwenhoven T, Hautvast JG, de Leeuw PW, Schaafsma G (1985). The effect of dietary sodium on urinary calcium and potassium excretion in normotensive men with different calcium intakes. *Am J Clin Nutr* 41: 52-60

Chakrabarti B, Park JW (1980). Glycosaminoglycans: structure and interaction. *CRC Crit Rev Biochem* 8: 225-313

Chan EL, Ho CS, MacDonald D, Ho SC, Chan TY, Swaminathan R (1992). Interrelationships between urinary sodium, calcium, hydroxyproline and serum PTH in healthy subjects. *Acta Endocrinol* 127: 242-245

Chan EL, Swaminathan R (1993). Effect of different amounts of sodium intake for 4 months on calcium metabolism in normal and oophorectomized rats. *J Bone Miner Res* 8: 1185-1189

Chobanian AV, Lille RD, Tercyak A, Blevins P (1974). The metabolic and hemodynamic effects of prolonged bed rest in normal subjects. *Circulation* 49: 551-559

Christenson RH (1997). Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem* 30: 573-593

Cirillo M, Ciacci C, Laurenzi M, Mellone M, Mazzacca G, De Santo NG (1997). Salt intake, urinary sodium, and hypercalciuria. *Miner Electrolyte Metab* 23: 265-268

Cooper C, Campion G, Melton LJ, III (1992). Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporos Int* 2: 285-289

Creedon A, Cashman KD (2000). The effect of high salt and high protein intake on calcium metabolism, bone composition and bone resorption in the rat. *Br J Nutr* 84: 49-56

Dawson-Hughes B, Fowler SE, Dalsky G, Gallagher C (1996). Sodium excretion influences calcium homeostasis in elderly men and women. *J Nutr* 126: 2107-2112

Deetjen P (1994) Wasser- und Salzhaushalt. In: Deetjen P., Speckmann E.-J. (eds) *Physiologie*. Urban & Schwarzenberg Verlag, München, Wien, Baltimore, pp 397-410

Deetjen P, Speckmann EJ (1994) *Physiologie*. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore

Delmas PD (1992). Clinical use of biochemical markers of bone remodeling in osteoporosis. *Bone* 13 Suppl 1: S17-S21

Demigne C, Sabboh H, Remesy C, Meneton P (2004). Protective effects of high dietary potassium: nutritional and metabolic aspects. *J Nutr* 134: 2903-2906

Devine A, Criddle RA, Dick IM, Kerr DA, Prince RL (1995). A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 62: 740-745

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

- DGE (2004) Ernährungsbericht. Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V., Frankfurt
- Disthabanchong S, Domrongkitchaiporn S, Sirikulchayanonta V, Stitchantrakul W, Karnsombut P, Rajatanavin R (2004). Alteration of noncollagenous bone matrix proteins in distal renal tubular acidosis. *Bone* 35: 604-613
- Domrongkitchaiporn S, Pongskul C, Sirikulchayanonta V, Stitchantrakul W, Leeprasert V, Ongphiphadhanakul B, Radinahamed P, Rajatanavin R (2002). Bone histology and bone mineral density after correction of acidosis in distal renal tubular acidosis. *Kidney Int* 62: 2160-2166
- Drummer C, Gerzer R, Baisch F, Heer M (2000). Body fluid regulation in μ -gravity differs from Earth: an overview. *Pflugers Arch* 441 [Suppl]: R66-R72
- Drummer C, Norsk P, Heer M (2001). Water and sodium balance in space. *Am J Kidney Dis* 38: 684-690
- Dusing R, Leibhammer S, Hoffmann G, Vetter H, Siffert W (1994). Hypertonic saline infusion induces activation of the lymphocyte Na^+/H^+ antiport and cytosolic alkalization in healthy human subjects. *Clin Invest* 72: 817-821
- Eiam-ong S, Kurtzman NA (1994). Metabolic acidosis and bone disease. *Miner Electrolyte Metab* 20: 72-80
- Elmadfa I, Leitzmann C (1998) Ernährung des Menschen. Wilhelm Fink Verlag, München
- Eriksen EF, Brixen K, Charles P (1995). New markers of bone metabolism: clinical use in metabolic bone disease. *Eur J Endocrinol* 132: 251-263
- Evans CE, Chughtai AY, Blumsohn A, Giles M, Eastell R (1997). The effect of dietary sodium on calcium metabolism in premenopausal and postmenopausal women. *Eur J Clin Nutr* 51: 394-399
- Farber, Soberman (1956). Total body water and total exchangeable sodium in edematous states due to cardiac, renal or hepatic disease. *J Clin Invest* 35: 779-791
- Farber S.J. (1960). Mucopolysaccharides and sodium metabolism. *Circulation* 941-947
- 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
- Fiore CE, Pennisi P, Ciffo F, Scebbba C, Amico A, Di Fazio S (1999). Immobilization-dependent bone collagen breakdown appears to increase with time: evidence for a

lack of new bone equilibrium in response to reduced load during prolonged bed rest. *Horm Metab Res* 31: 31-36

Food and Nutrition Board Institute of Medicine (2004) Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate. Dietary Reference Intakes (DRI). Washington DC,

Fortney SM, Turner C, Steinmann L, Driscoll T, Alfrey C (1994). Blood volume responses of men and women to bed rest. *J Clin Pharmacol* 34: 434-439

Franco V, Oparil S (2006). Salt sensitivity, a determinant of blood pressure, cardiovascular disease and survival. *J Am Coll Nutr* 25: 247S-255S

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 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

Fregly MJ (1981). Sodium and potassium. *Annu Rev Nutr* 1: 69-93

Friedman PA (1998). Codependence of renal calcium and sodium transport. *Annu Rev Physiol* 60: 179-197

Friedman PA (2000). Mechanisms of renal calcium transport. *Exp Nephrol* 8: 343-350

Frost CD, Law MR, Wald NJ (1991). By how much does dietary salt reduction lower blood pressure? II--Analysis of observational data within populations. *BMJ* 302: 815-818

Fulop M, Mackay M (2004). Renal tubular acidosis, Sjogren syndrome, and bone disease. *Arch Intern Med* 164: 905-909

Galletti F, Rutledge A, Triggle DJ (1991). Dietary sodium intake: influence on calcium channels and urinary calcium excretion in spontaneously hypertensive rats. *Biochem Pharmacol* 41: 893-896

Garnero P, Delmas PD (1997). Bone markers. *Baillieres Clin Rheumatol* 11: 517-537

Garnero P, Delmas PD (1998). Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 27: 303-323

- Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD (1994). Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 1693-1700
- Gharib C, Hughson RL (1992). Fluid and electrolyte regulation in space. *Adv Space Biol Med* 2: 113-130
- Gharib C, Maillet A, Gauquelin G, Allevard AM, Guell A, Cartier R, Arbeille P (1992). Results of a 4-week head-down tilt with and without LBNP countermeasure: I. Volume regulating hormones. *Aviat Space Environ Med* 63: 3-8
- Ginty F, Flynn A, Cashman KD (1998). The effect of dietary sodium intake on biochemical markers of bone metabolism in young women. *Br J Nutr* 79: 343-350
- Gobel BO, Hoffmann G, Ruppert M, Stumpe KO, Vetter H, Siffert W, Dusing R (1994). The lymphocyte Na⁺/H⁺ antiport: activation in primary hypertension and during chronic NaCl-loading. *Eur J Clin Invest* 24: 529-539
- Goedecke T, Vormann J (2006) *Chronisch übersäuert?* Fona Verlag, Lenzburg
- Goulding A (1981). Fasting urinary sodium/creatinine in relation to calcium/creatinine and hydroxyproline/creatinine in a general population of women. *N Z Med J* 93: 294-297
- Goulding A (1990). Osteoporosis: why consuming less sodium chloride helps to conserve bone [see comments]. *N Z Med J* 103: 120-122
- Goulding A, Campbell D (1983). Dietary NaCl loads promote calciuria and bone loss in adult oophorectomized rats consuming a low calcium diet. *J Nutr* 113: 1409-1414
- 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 (1986). Effects of NaCl on calcium balance, parathyroid function and hydroxyproline excretion in prednisolone-treated rats consuming low calcium diet. *J Nutr* 116: 1037-1044

Green J, Kleeman CR (1991). Role of bone in regulation of systemic acid-base balance. *Kidney Int* 39: 9-26

Greendale GA, Barrett-Connor E, Edelstein S, Ingles S, Haile R (1994). Dietary sodium and bone mineral density: results of a 16-year follow-up study. *J Am Geriatr Soc* 42: 1050-1055

Grenon SM, Sheynberg N, Hurwitz S, Xiao G, Ramsdell CD, Ehrman MD, Mai CL, Kristjansson SR, Sundby GH, Cohen RJ, Williams GH (2004). Renal, endocrine, and cardiovascular responses to bed rest in male subjects on a constant diet. *J Investig Med* 52: 117-128

Grinspoon SK, Baum HB, Kim V, Coggins C, Klibanski A (1995). Decreased bone formation and increased mineral dissolution during acute fasting in young women. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 3628-3633

Grollmann A (1961). The role of salt in health and disease. *Am J Cardiol* 8: 593-602

Guell A, Dupui P, Fanjaud G, Bes A, Moatti JP, Gharrib C (1982). Hydroelectrolytic and hormonal modifications related to prolonged bedrest in antiorthostatic position. *Acta Astronaut* 9: 589-592

Guyton AC, Hall EH (2000a) Regulation of Acid-Base Balance. In: Guyton C.G., Hall J.E. (eds) *Textbook of Medical Physiology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, New York, St.Louis, Sydney, Toronto, pp 346-363

Guyton AC, Hall JE (2000b) *Textbook of medical physiology*. W.B.Saunders Company, Philadelphia

Harrington M, Bennett T, Jakobsen J, Ovesen L, Brot C, Flynn A, Cashman KD (2004a). Effect of a high-protein, high-salt diet on calcium and bone metabolism in postmenopausal women stratified by hormone replacement therapy use. *Eur J Clin Nutr* 58: 1436-1439

Harrington M, Bennett T, Jakobsen J, Ovesen L, Brot C, Flynn A, Cashman KD (2004b). The effect of a high-protein, high-sodium diet on calcium and bone metabolism in postmenopausal women and its interaction with vitamin D receptor genotype. *Br J Nutr* 91: 41-51

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

Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, Weaver C (2000). Peak bone mass. *Osteoporos Int* 11: 985-1009

Heer M, Baisch F, Kropp J, Gerzer R, Drummer C (2000a). High dietary sodium chloride consumption may not induce body fluid retention in humans. *Am J Physiol Renal Physiol* 278: F585-F595

Heer M, Boerger A, Kamps N, Biener C, Korr C, Drummer C (2000b). Nutrient supply during recent European missions. *Pflugers Arch* 441 [Suppl]: R8-R14

Heer M, Drummer C, Baisch F, Maass H, Gerzer R, Kropp J, Blomqvist CG (1992). Effects of head-down tilt and saline loading on body weight, fluid, and electrolyte homeostasis in man. *Acta Physiol Scand Suppl* 604: 13-22

Heilberg IP, Martini LA, Szejnfeld VL, Carvalho AB, Draibe SA, Ajzen H, Ramos OL, Schor N (1994). Bone disease in calcium stone forming patients. *Clin Nephrol* 42: 175-182

Hernandez S, I, Raij L (2006). Salt sensitivity and hypertension after menopause: role of nitric oxide and angiotensin II. *Am J Nephrol* 26: 170-180

Hodsman AB, Hanley DA, Watson PH, Fraher LJ (2002) Parathyroid Hormone. In: Bilezikian J.P., Raisz L.G., Rodan G.A. (eds) *Principles of Bone Biology*. Academic Press, San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, pp 1305-1324

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

Hunter D, de Lange M, Snieder H, MacGregor AJ, Swaminathan R, Thakker RV, Spector TD (2001). Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation. *J Bone Miner Res* 16: 371-378

Itoh R, Suyama Y (1996). Sodium excretion in relation to calcium and hydroxyproline excretion in a healthy Japanese population. *Am J Clin Nutr* 63: 735-740

Itoh R, Suyama Y, Oguma Y, Yokota F (1999). Dietary sodium, an independent determinant for urinary deoxypyridinoline in elderly women. A cross-sectional study on the effect of dietary factors on deoxypyridinoline excretion in 24-h urine specimens from 763 free-living healthy Japanese. *Eur J Clin Nutr* 53: 886-890

Iwasa Y, Shimoyama K, Aoki K, Ohya K, Uematsu H (2000). The effect of high salt intake on the mandibular bone loss in Dahl-Iwai salt-sensitive rat. *J Med Dent Sci* 47: 187-195

Jones G, Beard T, Parameswaran V, Greenaway T, von Witt R (1997). A population-based study of the relationship between salt intake, bone resorption and bone mass. *Eur J Clin Nutr* 51: 561-565

Jones G, Riley MD, Whiting S (2001). Association between urinary potassium, urinary sodium, current diet, and bone density in prepubertal children. *Am J Clin Nutr* 73: 839-844

Jubiz W, Canterbury JM, Reiss E, Tyler FH (1972). Circadian rhythm in serum parathyroid hormone concentration in human subjects: correlation with serum calcium, phosphate, albumin, and growth hormone levels. *J Clin Invest* 51: 2040-2046

Kalhoff H, Manz F (2001). Nutrition, acid-base status and growth in early childhood. *Eur J Nutr* 40: 221-230

Kanis JA, Johnell O (2005). Requirements for DXA for the management of osteoporosis in Europe. *Osteoporos Int* 16: 229-238

Kanis JA, WHO Group (1994). Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: a synopsis of a WHO report. *Osteoporos Int* 4: 368-381

Kellum JA (2002). Saline-induced hyperchloremic metabolic acidosis. *Crit Care Med* 30: 259-261

Kessler R, Leibhammer S, Laue O, Sachinidis A, Siffert W, Hols H, Vetter H, Dusing R (1997). Acute saline infusion induces extracellular acidification and activation of the Na⁺/H⁺ exchanger in man. *Eur J Clin Invest* 27: 558-565

Kim H, Iwasaki K, Miyake T, Shiozawa T, Nozaki S, Yajima K (2003). Changes in bone turnover markers during 14-day 6 degrees head-down bed rest. *J Bone Miner Metab* 21: 311-315

Kirkendall, Connor W.E., Abboud F., Rastogi S.P., Anderson T.A., Fry M. (1976). The effect of dietary sodium chloride on blood pressure, body fluids, electrolytes, renal function, and serum lipids of normotensive man. *J Lab Clin Med* 87: 418-434

Kivirikko KI (1970). Urinary excretion of hydroxyproline in health and disease. *Int Rev Connect Tissue Res* 5: 93-163

Kluthe, B. (2001). PRODI - Ernährungs- und Diätberatungsprogramm 4.5 LE Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH

Krieger NS, Bushinsky DA, Frick KK (2003). Cellular mechanisms of bone resorption induced by metabolic acidosis. *Semin Dial* 16: 463-466

Krieger NS, Frick KK, Bushinsky DA (2004). Mechanism of acid-induced bone resorption. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 13: 423-436

Kurtz TW, Al Bander HA, Morris RC, Jr. (1987). "Salt-sensitive" essential hypertension in men. Is the sodium ion alone important? *N Engl J Med* 317: 1043-1048

Lamberg SI, Stoolmiller AC (1974). Glycosaminoglycans. A biochemical and clinical review. *J Invest Dermatol* 63: 433-449

Law L.K., Swaminathan R., Donnan S.P.B. (1988). Relationship between sodium excretion and calcium excretion in healthy subjects. *Med Sci Res* 16: 643

Leach CS (1979). A review of the consequences of fluid and electrolyte shifts in weightlessness. *Acta Astronaut* 6: 1123-1135

Leach CS, Johnson PC, Rambaut PC (1976). Metabolic and endocrine studies: the second manned Skylab mission. *Aviat Space Environ Med* 47: 402-410

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

LeBlanc A, Schneider VS, Evans HJ, Engelbretson DA, Krebs JM (1990). Bone mineral loss and recovery after 17 weeks of bed rest. *J Bone Miner Res* 5: 843-850

LeBlanc A, Shackelford L, Schneider V (1998). Future human bone research in space. *Bone* 22: 113S-116S

Lemann J, Jr., Bushinsky DA, Hamm LL (2003). Bone buffering of acid and base in humans. *Am J Physiol Renal Physiol* 285: F811-F832

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

Lemann J, Jr., Litzow JR, Lennon EJ (1966). The effects of chronic acid loads in normal man: further evidence for the participation of bone mineral in the defense against chronic metabolic acidosis. *J Clin Invest* 45: 1608-1614

Lemann J, Jr., Pleuss JA, Gray RW, Hoffmann RG (1991). Potassium administration reduces and potassium deprivation increases urinary calcium excretion in healthy adults [corrected] [published erratum appears in *Kidney Int* 1991 Aug;40(2):388]. *Kidney Int* 39: 973-983

Lennon EJ, Lemann J, Jr., Litzow JR (1966). The effects of diet and stool composition on the net external acid balance of normal subjects. *J Clin Invest* 45: 1601-1607

Lietz G, Avenell A, Robins SP (1997). Short-term effects of dietary sodium intake on bone metabolism in postmenopausal women measured using urinary deoxypyridinoline excretion. *Br J Nutr* 78: 73-82

Lin PH, Ginty F, Appel LJ, Aickin M, Bohannon A, Garner P, Barclay D, Svetkey LP (2003). The DASH diet and sodium reduction improve markers of bone turnover and calcium metabolism in adults. *J Nutr* 133: 3130-3136

Lucas PA, Lacour B, Comte L, McCarron DA, Drueke T (1988). Abnormal parameters of acid-base balance in genetic hypertension. *Kidney Int Suppl* 25: S19-S22

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

Luft FC, Fineberg NS, Sloan RS (1982). Estimating dietary sodium intake in individuals receiving a randomly fluctuating intake. *Hypertension* 4: 805-808

Lutwak L, Whedon GD, Lachance PA, Reid JM, Lipscomb HS (1969). Mineral, electrolyte and nitrogen balance studies of the Gemini-VII fourteen-day orbital space flight. *J Clin Endocrinol Metab* 29: 1140-1156

MacGregor GA, Cappuccio FP (1993). The kidney and essential hypertension: a link to osteoporosis? *J Hypertens* 11: 781-785

Macleay JM, Olson JD, Enns RM, Les CM, Toth CA, Wheeler DL, Turner AS (2004). Dietary-induced metabolic acidosis decreases bone mineral density in mature ovariectomized ewes. *Calcif Tissue Int* 75: 431-437

Martini LA, Cuppari L, Colugnati FA, Sigulem DM, Szejnfeld VL, Schor N, Heilberg IP (2000). High sodium chloride intake is associated with low bone density in calcium stone-forming patients. *Clin Nephrol* 54: 85-93

Massey LK (2005). Effect of dietary salt intake on circadian calcium metabolism, bone turnover, and calcium oxalate kidney stone risk in postmenopausal women. *Nutrit Res* 25: 891-903

Massey LK, Whiting SJ (1996). Dietary salt, urinary calcium, and bone loss. *J Bone Miner Res* 11: 731-736

Matkovic V, Ilich JZ, Andon MB, Hsieh LC, Tzagournis MA, Lager BJ, Goel PK (1995). Urinary calcium, sodium, and bone mass of young females. *Am J Clin Nutr* 62: 417-425

McCarron DA, Rankin LI, Bennett WM, Krutzik S, McClung MR, Luft FC (1981). Urinary calcium excretion at extremes of sodium intake in normal man. *Am J Nephrol* 1: 84-90

McKnight JA, Roberts G, Sheridan B, Atkinson AB (1994). The effect of low and high sodium diets on plasma atrial natriuretic factor, the renin-aldosterone system and blood pressure in subjects with essential hypertension. *Clin Endocrinol (Oxf)* 40: 73-77

McParland BE, Goulding A, Campbell AJ (1989). Dietary salt affects biochemical markers of resorption and formation of bone in elderly women. *BMJ* 299: 834-835

Melada GA, Goldman RH, Luetscher JA, Zager PG (1975). Hemodynamics, renal function, plasma renin, and aldosterone in man after 5 to 14 days of bedrest. *Aviat Space Environ Med* 46: 1049-1055

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

Meyer WJ, Transbol I, Bartter FC, Delea C (1976). Control of calcium absorption: effect of sodium chloride loading and depletion. *Metabolism* 25: 989-993

Millet C, Custaud MA, Maillet A, Allevard AM, Duvareille M, Gauquelin-Koch G, Gharib C, Fortrat JO (2001). Endocrine responses to 7 days of head-down bed rest and orthostatic tests in men and women. *Clin Physiol* 21: 172-183

Moe OW, Fuster D (2003). Clinical acid-base pathophysiology: disorders of plasma anion gap. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 17: 559-574

Molgaard C, Thomsen BL, Michaelsen KF (2001). The influence of calcium intake and physical activity on bone mineral content and bone size in healthy children and adolescents. *Osteoporos Int* 12: 887-894

Morley JE (2007). Should all long-term care residents receive vitamin D? *J Am Med Dir Assoc* 8: 69-70

Morlion BJ (1999) Wasser, Elektrolyte und Säure-Basen-Haushalt. In: Biesalski H.K.et al. (ed) *Ernährungsmedizin*. Thieme-Verlag, Stuttgart, New York, pp 159-166

Morris RC, Jr., Sebastian A, Forman A, Tanaka M, Schmidlin O (1999). Normotensive salt sensitivity: effects of race and dietary potassium. *Hypertension* 33: 18-23

Nakamura K, Hori Y, Nashimoto M, Okuda Y, Miyazaki H, Kasai Y, Yamamoto M (2004). Dietary calcium, sodium, phosphorus, and protein and bone metabolism in

elderly Japanese women: a pilot study using the duplicate portion sampling method. *Nutrition* 20: 340-345

Natri AM, Karkkainen MU, Ruusunen M, Puolanne E, Lamberg-Allardt C (2005). A 7-week reduction in salt intake does not contribute to markers of bone metabolism in young healthy subjects. *Eur J Clin Nutr* 59: 311-317

Navidi M, Wolinsky I, Fung P, Arnaud SB (1995). Effect of excess dietary salt on calcium metabolism and bone mineral in a spaceflight rat model. *J Appl Physiol* 78: 70-75

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

New SA (2002). Nutrition Society Medal lecture. The role of the skeleton in acid-base homeostasis. *Proc Nutr Soc* 61: 151-164

Nguyen MK, Kurtz I (2006). Is the Osmotically Inactive Sodium Storage Pool Fixed or Variable? *J Appl Physiol*

NIH Consensus Statement (1993) Consensus Development Conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis.

Noack R (1999) Energiehaushalt. In: Biesalski H.K.et al. (ed) *Ernährungsmedizin*. Thieme-Verlag, Stuttgart, New York, 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

Norsk P (1992). Gravitational stress and volume regulation. *Clin Physiol* 12: 505-526

Oberleithner H (2003) Salz- und Wasserhaushalt. In: Klinke R.und Silbernagl.S. (ed) *Lehrbuch der Physiologie*. Thieme-Verlag, Stuttgart, New York, pp 337-364

Parzynski SE, Hargens AR, Tucker B, Aratow M, Styf J, Crenshaw A (1991). Transcapillary fluid shifts in tissues of the head and neck during and after simulated microgravity. *J Appl Physiol* 71: 2469-2475

Passmore R, Eastwood MA (1989) Water and electrolytes. In: Davidson S, Passmore R (eds) *Human nutrition and dietetics*. Churchill Livingston, New York, pp 93-102

Peacock M (2002). Primary hyperparathyroidism and the kidney: biochemical and clinical spectrum. *J Bone Miner Res* 17 Suppl 2: N87-N94

Pietschmann F, Breslau NA, Pak CY (1992). Reduced vertebral bone density in hypercalciuric nephrolithiasis. *J Bone Miner Res* 7: 1383-1388

Potts JT (2005). Parathyroid hormone: past and present. *J Endocrinol* 187: 311-325

Pschyrembel W (2004) *Pschyrembel-Klinisches Wörterbuch*. Berlin, New York

Reichrath J, Lehmann B, Carlberg C, Varani J, Zouboulis CC (2007). Vitamins as hormones. *Horm Metab Res* 39: 71-84

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

Remer T, Manz F (1995). Potential renal acid load of foods and its influence on urine pH. *J Am Diet Assoc* 95: 791-797

Rittweger J, Frost HM, Schiessl H, Ohshima H, Alkner B, Tesch P, Felsenberg D (2005). Muscle atrophy and bone loss after 90 days' bed rest and the effects of flywheel resistive exercise and pamidronate: Results from the LTBR study. *Bone* 36: 1019-1029

Rodman JS, Heinemann HO (1975). Parathyroid hormone and the regulation of acid-base balance. *Am J Med Sci* 270: 481-489

Rosen HN, Moses AC, Garber J, Iloputaife ID, Ross DS, Lee SL, Greenspan SL (2000). Serum CTX: a new marker of bone resorption that shows treatment effect more often than other markers because of low coefficient of variability and large changes with bisphosphonate therapy. *Calcif Tissue Int* 66: 100-103

Sagnella GA, Markandu ND, Buckley MG, Miller MA, Singer DR, MacGregor GA (1989). Hormonal responses to gradual changes in dietary sodium intake in humans. *Am J Physiol* 256: R1171-R1175

Sambrook P, Cooper C (2006). Osteoporosis. *Lancet* 367: 2010-2018

Saric M, Piasek M, Blanusa M, Kostial K, Ilich JZ (2005). Sodium and calcium intakes and bone mass in rats revisited. *Nutrition* 21: 609-614

Schafflhuber M, Volpi N, Dahlmann A, Hilgers KF, Maccari F, Dietsch P, Wagner H, Luft FC, Eckardt KU, Titze J (2007). The mobilization of osmotically inactive Na⁺ by growth and by dietary salt restriction in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*

Scheid P (2003) Säure-Basen-Gleichgewicht. In: Klinke R. und Silbernagl S. (ed) *Lehrbuch der Physiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, pp 273-286

Schek A (2002) *Mineralstoffe. Ernährungslehre kompakt*. Umschau Zeitschriftenverlag, Frankfurt, pp 146-161

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

Schmidt W, Prommer N (2005). The optimised CO-rebreathing method: a new tool to determine total haemoglobin mass routinely. *Eur J Appl Physiol* 95: 486-495

Schmolke B (2001). [Laboratory diagnosis of osteoporosis]. *Orthopade* 30: 425-436

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

Seeliger E, Ladwig M, Reinhardt HW (2006). Are large amounts of sodium stored in an osmotically inactive form during sodium retention? Balance studies in freely moving dogs. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R1429-R1435

Seeliger E, Wronski T, Ladwig M, Rebeschke T, Persson PB, Reinhardt HW (2005). The 'body fluid pressure control system' relies on the Renin-Angiotensin-aldosterone system: balance studies in freely moving dogs. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 32: 394-399

Seibel MJ, Woitge HW (1999). Basic principles and clinical applications of biochemical markers of bone metabolism: biochemical and technical aspects. *J Clin Densitom* 2: 299-321

Sellmeyer DE, Schloetter M, Sebastian A (2002). Potassium citrate prevents increased urine calcium excretion and bone resorption induced by a high sodium chloride diet. *J Clin Endocrinol Metab* 87: 2008-2012

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, Distler A (1994). Acid-base abnormalities in hypertension. *Am J Med Sci* 307 Suppl 1: S112-S115

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

Shortt C, Flynn A (1990). Sodium-Calcium inter-relationships with specific reference to osteoporosis. *Nutrition Research Reviews* 3: 101-115

Shortt C, Madden A, Flynn A, Morrissey PA (1988). Influence of dietary sodium intake on urinary calcium excretion in selected Irish individuals. *Eur J Clin Nutr* 42: 595-603

Siani A, Guglielmucci F, Farinaro E, Strazzullo P (2000). Increasing evidence for the role of salt and salt-sensitivity in hypertension. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 10: 93-100

Silbernagl S (2003) Die Funktion der Nieren. In: Klinke R. und Silbernagl S. (ed) *Lehrbuch der Physiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, pp 287-336

Silbernagl S, Despopoulos A (2000) *Taschenatlas der Physiologie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York

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, Uchakin PN, Tobin BW (2002). Space flight nutrition research: platforms and analogs. *Nutrition* 18: 926-929

Smith SM, Wastney ME, O'Brien KO, Morukov BV, Larina IM, Abrams SA, Davis-Street JE, Oganov V, Shackelford LC (2005). Bone markers, calcium metabolism, and calcium kinetics during extended-duration space flight on the mir space station. *J Bone Miner Res* 20: 208-218

StatSoft (2005). *STATISTICA - Data analysis software system 7.1*

Stephens RC, Mythen MG (2000). Saline-based fluids can cause a significant acidosis that may be clinically relevant. *Crit Care Med* 28: 3375-3377

Story DA, Liskaser F, Bellomo R (2000). Saline infusion, acidosis, and the Stewart approach. *Anesthesiology* 92: 624

Sugahara K, Kitagawa H (2000). Recent advances in the study of the biosynthesis and functions of sulfated glycosaminoglycans. *Curr Opin Struct Biol* 10: 518-527

Taguchi Y, Gorai I, Zhang MG, Chaki O, Nakayama M, Minaguchi H (1998). Differences in bone resorption after menopause in Japanese women with normal or low bone mineral density: quantitation of urinary cross-linked N-telopeptides. *Calcif Tissue Int* 62: 395-399

Titze J, Bauer K, Schafflhuber M, Dietsch P, Lang R, Schwind KH, Luft FC, Eckardt KU, Hilgers KF (2005). Internal sodium balance in DOCA-salt rats: a body composition study. *Am J Physiol Renal Physiol* 289: F793-F802

Titze J, Krause H, Hecht H, Dietsch P, Rittweger J, Lang R, Kirsch KA, Hilgers KF (2002a). Reduced osmotically inactive Na storage capacity and hypertension in the Dahl model. *Am J Physiol Renal Physiol* 283: F134-F141

Titze J, Lang R, Ilies C, Schwind KH, Kirsch KA, Dietsch P, Luft FC, Hilgers KF (2003). Osmotically inactive skin Na⁺ storage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 285: F1108-F1117

Titze J, Maillet A, Lang R, Gunga HC, Johannes B, Gauquelin-Koch G, Kihm E, Larina I, Gharib C, Kirsch KA (2002b). Long-term sodium balance in humans in a terrestrial space station simulation study. *Am J Kidney Dis* 40: 508-516

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

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

Topaloglu AK, Yildizdas D, Yilmaz HL, Mungan NO, Yuksel B, Ozer G (2005). Bone calcium changes during diabetic ketoacidosis: a comparison with lactic acidosis due to volume depletion. *Bone* 37: 122-127

Trinchieri A, Nespoli R, Ostini F, Rovera F, Zanetti G, Pisani E (1998). A study of dietary calcium and other nutrients in idiopathic renal calcium stone formers with low bone mineral content. *J Urol* 159: 654-657

Ummenhofer C, Kluthe R (1994). [Definition of "salt sensitivity"]. *Dtsch Med Wochenschr* 119: 49-57

Volpi N (1999). Disaccharide analysis and molecular mass determination to microgram level of single sulfated glycosaminoglycan species in mixtures following agarose-gel electrophoresis. *Anal Biochem* 273: 229-239

Waters WW, Platts SH, Mitchell BM, Whitson PA, Meck JV (2005). Plasma volume restoration with salt tablets and water after bed rest prevents orthostatic hypotension and changes in supine hemodynamic and endocrine variables. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288: H839-H847

Weisinger JR (1996). New insights into the pathogenesis of idiopathic hypercalciuria: the role of bone. *Kidney Int* 49: 1507-1518

WHO (World Health Organization). Energy and protein requirements. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation: 724

Zarkadas M, Gougeon-Reyburn R, Marliss EB, Block E, Alton-Mackey M (1989). Sodium chloride supplementation and urinary calcium excretion in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 50: 1088-1094

Zemel MB, Bedford BA, Standley PR, Sowers JR (1989). Saline infusion causes rapid increase in parathyroid hormone and intracellular calcium levels. *Am J Hypertens* 2: 185-187

8 Danksagung

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

Herrn Prof. Dr. Peter Stehle für die Überlassung des Themas, sowie die fachliche Diskussion und die ständige Bereitschaft, mich zu unterstützen.

Frau PD. Dr. Martina Heer zum einen für die Möglichkeit diese Arbeit in ihrer Abteilung (Weltraumphysiologie) durchführen zu dürfen. Zum anderen für die zahlreichen, intensiven wissenschaftlichen Diskussionen, die mir nicht nur sehr hilfreich waren, sondern auch immer wieder meine Freude an der Wissenschaft verstärkt haben. Sie hat mich zu jeder Zeit vollstens unterstützt und es mir ermöglicht die Ergebnisse meiner Arbeit auf internationalen wissenschaftlichen Kongressen zu präsentieren. Ganz ganz herzlichen Dank dafür!

Frau Prof. Dr. Dr. Sauerwein für die Bereitschaft ein zusätzliches Gutachten anzufertigen.

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

Frau Dr. Natalie Baecker für die hervorragende Betreuung, sowie für die organisatorische und wissenschaftliche Unterstützung während der gesamten Arbeit. Ihre Erfahrungen und Kenntnisse, die sie mir in zahlreichen Gesprächen weitergab, waren mir immer eine wertvolle Hilfe.

Frau Judith Bühlmeier für das Lesen der Arbeit und ihre hilfreichen Kommentare.

Meinen Probanden für ihre hervorragende Kooperationsbereitschaft und ihr großes Engagement bei allen Experimenten.

Herrn Dr. Rolf Fimmers vom Institut für medizinische Biometrie, Informatik und Epidemiologie der Universität Bonn, für die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung.

Frau Gabriele Kraus, Frau Jette Hjorth-Müller und Frau Elfriede Huth für ihre Hilfe bei der analytischen Auswertung im Labor.

Herrn Henning Soll und Frau Yvonne Pecena für die tolle Zusammenarbeit bei der Probandenauswahl.

Herrn Paul Kuklinski und Herrn Götz Kluge (+ Team) für die Unterstützung bei der medizinischen Auswahl der Probanden.

Den Mitarbeitern der Abteilung Weltraumphysiologie für die freundschaftliche Zusammenarbeit und Arbeitsatmosphäre, in der ich mich jeden Tag aufs Neue sehr wohl fühle. Der Zusammenhalt und die ständige Unterstützungsbereitschaft auch in stressigen Zeiten haben mich sehr beeindruckt.

Herrn Toni Abels für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Der Wernher von Braun Stiftung und dem DLR für die finanzielle Unterstützung.

Zuletzt danke ich meiner Familie, insbesondere meinen Mann Stephan, meinen Eltern und meinen Schwiegereltern, die mir während der ganzen Zeit immer eine wichtige Stütze gewesen sind.