

Aus dem Experimental & Clinical Research Center (ECRC) der
Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Der Einfluss von Kochsalz auf Energiestoffwechsel und
kardiovaskuläre Parameter gesunder Männer und
Frauen – eine randomisierte Placebo-kontrollierte Studie

The effect of table salt on energy metabolism and
cardiovascular parameters in healthy men and women –
a randomized, placebo-controlled study

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Samuel Klamer
aus Heidelberg

Datum der Promotion: 30.11.2023

Vorwort

Teilergebnisse der hier vorliegenden Arbeit wurden vor Abschluss des Promotionsverfahrens in folgender Originalarbeit publiziert:

Anja Mähler, **Samuel Klamer**, András Maifeld, Hendrik Bartolomaeus, Lajos Markó, Chia-Yu Chen, Sofia K Forslund, Michael Boschmann, Dominik N Müller, Nicola Wilck

“Increased Salt Intake Decreases Diet-Induced Thermogenesis in Healthy Volunteers: A Randomized Placebo-Controlled Study”

Nutrients. 2022 Jan 7;14(2):253. doi: 10.3390/nu140202

Inhaltsverzeichnis

I. Abbildungsverzeichnis	iii
II. Tabellenverzeichnis	iv
III. Abkürzungsverzeichnis	v
IV. Abstract	vii
1. Einleitung.....	1
1.1. Natriumchlorid – Bedeutung für den Menschen	1
1.2. Regulation des Natriumhaushalts – Alte und neue Erkenntnisse	1
1.3. Salz als Risikofaktor für die Bevölkerungsgesundheit	3
1.4. Salz und Herz-Kreislauf-Erkrankungen	5
1.5. Salz und Adipositas	7
1.6. Fragestellung und Hypothesen	10
2. Material und Methoden	12
2.1. Proband*innenauswahl	12
2.2. Ein-, Ausschluss- und Abbruchkriterien.....	13
2.3. Studiendesign	14
2.4. Prüfprodukte und Randomisierung.....	15
2.5. Anthropometrische Messungen.....	16
2.6. Indirekte Kalorimetrie	16
2.6.1. Die Komponenten des Energiestoffwechsels.....	16
2.6.2. Prinzip	18
2.6.3. Durchführung.....	20
2.7. Bioelektrische Impedanzanalyse.....	23
2.7.1. Prinzip	24
2.7.2. Durchführung.....	25
2.8. Ernährungsanalyse	26
2.9. 24-Stunden-Sammelurin	27
2.10. Blutentnahmen und Urinproben	28
2.11. Blutdruck und Gefäßsteifigkeit	29
2.12. Testmahlzeit	29
2.13. Fallzahlplanung.....	30
2.14. Datenverarbeitung und statistische Analyse.....	31
2.15. Hardware	31
2.16. Software	31
3. Ergebnisse.....	32

3.1. Vorbemerkung	32
3.2. Studienverlauf	32
3.3. Basisparameter	33
3.4. Indirekte Kalorimetrie	34
3.4.1. Energieumsatz und ppTh	34
3.4.2. Respiratory Exchange Rate und Substratverwertung	38
3.5. Bioelektrische Impedanzanalyse	41
3.6. Ernährungsanalyse	42
3.6.1. Natrium und Kochsalz	42
3.6.2. Energiegehalt, Makro- und Mikronährstoffe	44
3.7. Urinanalyse	45
3.8. Blutdruck und Gefäßsteifigkeit	47
4. Diskussion	50
4.1. Kalorimetrie	50
4.1.1. Postprandiale Thermogenese	50
4.1.2. RER und Substratverwertung	54
4.2. Kardiovaskuläre Parameter	55
4.3. Ernährungsanalyse	56
4.4. Körperzusammensetzung und Urinanalyse	57
4.5. Allgemeingültigkeit der Empfehlung zur Salzreduktion	58
4.6. Methodische Einschränkungen	59
V. Literaturverzeichnis	60
VI. Eidesstattliche Versicherung / Anteilserklärung	71
VII. Curriculum Vitae	73
VIII. Publikationsliste	74
IX. Danksagung	75
X. Bescheinigung Statistik	76

I. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Studienablauf: Visitenschema und Inhalte der einzelnen Untersuchungstage (S. 15)

Abbildung 2: Die Komponenten des menschlichen Energiestoffwechsels: Schematische Darstellung eines täglichen Energieumsatzes von 10000 kJ mit seinen Bestandteilen (S. 17)

Abbildung 3: Positionierung der Proband*innen bei der indirekten Kalorimetrie nach der Canopy-Verdünnungsmethode (S. 22)

Abbildung 4: Kompartiment-Modelle der Körperzusammensetzung (S. 24)

Abbildung 5: CONSORT-Flussdiagramm: Entwicklung der Proband*innenzahlen im Studienverlauf (S. 33)

Abbildung 6: Relative Änderung des Energieumsatzes nach Verzehr der Testmahlzeit in der Placebo- und Salzgruppe in V1 und V2 (A). Differenz ($V2 - V1$) der relativen Änderung des Energieumsatzes nach Verzehr der Testmahlzeit in der Placebo- und Salzgruppe (B) (S. 36)

Abbildung 7: ppTh über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit in der Placebo- und Salzgruppe in V1 und V2 (A). Differenz ($V2 - V1$) der ppTh über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit in der Placebo- und Salzgruppe (B) (S. 38)

Abbildung 8: RER über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit in der Placebo- und Salzgruppe in V1 und V2 (A). Differenz ($V2 - V1$) der RER über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit in der Placebo- und Salzgruppe (B) (S. 40)

Abbildung 9: Mittlere tägliche Natriumeinnahme in der Placebo- und Salzgruppe über jeweils drei Tage vor V1 und V2 (S. 43)

Abbildung 10: Differenz ($V2 - V1$) der täglichen Natriumausscheidung in der Placebo- und Salzgruppe (S. 47)

Abbildung 11: Differenz ($V2 - V1$) des systolischen und des diastolischen Blutdrucks in der Placebo- und Salzgruppe (S. 49)

II. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien der Studie (S. 13)

Tabelle 2: Gaswechsel, kalorisches Äquivalent und RER bei der Oxidation der Makronährstoffe (S. 20)

Tabelle 3: Anteil, Menge und Energiegehalt der Makronährstoffe in der Testmahlzeit (S. 30)

Tabelle 4: Anthropometrische Basisparameter der gesamten Studienpopulation, der Placebo- und der Salzgruppe (S. 34)

Tabelle 5: Körpergewicht und -zusammensetzung in der Placebogruppe in V1 und V2 (S. 41)

Tabelle 6: Körpergewicht und -zusammensetzung in der Salzgruppe in V1 und V2 (S. 41)

Tabelle 7: Ernährungsanalyse der Makronährstoffe in der Placebogruppe vor V1 und V2 (S. 44)

Tabelle 8: Ernährungsanalyse der Makronährstoffe in der Salzgruppe vor V1 und V2 (S. 44)

Tabelle 9: Urinanalyse in der Placebogruppe vor V1 und V2 (S. 46)

Tabelle 10: Urinanalyse in der Salzgruppe vor V1 und V2 (S. 46)

Tabelle 11: Kardiovaskuläre Parameter in der Placebogruppe in V1 und V2 (S. 48)

Tabelle 12: Kardiovaskuläre Parameter in der Salzgruppe in V1 und V2 (S. 48)

III. Abkürzungsverzeichnis

Abb. – Abbildung

ATP – Adenosintriphosphat

BAT – *brown adipose tissue*, Braunes Fettgewebe

BCM – *body cell mass*, Körperzellmasse

BE – Blutentnahme

BIA – Bioelektrische Impedanzanalyse

BMI – *Body Mass Index*, Körpermasseindex

d – *day*, Tag

DEGS – Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland

DGE – Deutsche Gesellschaft für Ernährung

ECW – *extracellular water*, Extrazelluläres Wasser

EKG – Elektrokardiogramm

EU – Energieumsatz

FFM – Fettfreie Masse

FM – Fettmasse

GAG – Glykosaminoglykan

GBD-Studie – *Global-Burden-Of-Disease-Studie*

ICW – *intracellular water*, Intrazelluläres Wasser

MW – Mittelwert

n.s. – nicht signifikant

NaCl – Natriumchlorid

NCDs – *noncommunicable diseases*, nicht-übertragbare Krankheiten

ppTh – postprandiale Thermogenese

PWV – *pulse wave velocity*, Pulswellengeschwindigkeit

RER – Respiratory Exchange Ratio

RNU – Ruhe-Nüchtern-Umsatz

RR_{dia} – diastolischer Blutdruck

RR_{sys} – systolischer Blutdruck

s. – signifikant

SCFA – *short-chain-fatty-acid*, Kurzkettige Fettsäuren

SD – *standard deviation*, Standardabweichung

SEM – *standard error of the mean*, Standardfehler

Tab. – Tabelle

TBW – *total body water*, Gesamtkörperwasser

TonEBP – *tonicity enhancer binding protein*

UCP-1 – *uncoupling protein 1*

UNaV – tägliche Natriumausscheidung in g

V1 – Visite 1

V2 – Visite 2

VEGF-C – *vascular endothelial growth factor-C*

vs. – versus

WAT – *white adipose tissue*, Weißes Fettgewebe

WHO – *World Health Organisation*, Weltgesundheitsorganisation

WHR – *waist-hip ratio*, Verhältnis von Taillen- zu Hüftumfang

IV. Abstract

Einleitung: Ein hoher Salzkonsum ist ein wichtiger Risikofaktor für nichtübertragbare Krankheiten. Er führt zu Bluthochdruck, einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität und ist ein energieunabhängiger Risikofaktor für Adipositas, wobei die genauen Zusammenhänge bisher unverstanden sind. Die postprandiale Thermogenese (ppTh) ist für ca. 10% des täglichen Energieumsatzes verantwortlich. Die vorliegende Arbeit untersucht die Frage, ob ein erhöhter Salzkonsum durch die Verringerung der ppTh in die Energiehomöostase eingreift und somit die Entstehung von Übergewicht begünstigen könnte. Zusätzlich wurde der Einfluss einer erhöhten Salzzufuhr auf etablierte kardiovaskuläre Parameter und die Körperzusammensetzung untersucht.

Methoden: 40 gesunde Proband*innen (20 Männer und 20 Frauen) zwischen 18 und 50 Jahren wurden in eine randomisierte Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie eingeschlossen. Proband*innen erhielten über 14 Tage täglich 6 g Kochsalz in Kapseln oder Placebo zusätzlich zu ihrer normalen Ernährung. Vor und nach der Interventionsphase wurde im Rahmen einer Studiervisite der Ruhe-Nüchtern-Umsatz nach 12-stündiger Nüchternheit und die ppTh über 4 Stunden nach einer standardisierten Testmahlzeit von 440 kcal mittels indirekter Kalorimetrie gemessen. Zudem wurden der Blutdruck und die Gefäßsteifigkeit sowie die Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanzanalyse bestimmt. Über jeweils 3 Tage vor den Studiervisiten wurde eine Ernährungsanalyse mithilfe eines Ernährungsprotokolls erstellt und der Sammelurin in 24h-Urinfraktionen gesammelt und ausgewertet.

Ergebnisse: 38 Proband*innen (19 pro Gruppe) schlossen die Studie ab. Die Salzzufuhr über die Nahrung betrug in beiden Gruppen etwa 6 g pro Tag, woraus sich eine Salzzufuhr von 12 g pro Tag in der Salzgruppe und von 6 g pro Tag in der Placebogruppe ergab. Während der Ruhe-Nüchtern-Umsatz unverändert blieb, sank die ppTh in der Salzgruppe um 1,3 % ($p=0,048$) und stieg in der Placebogruppe um 0,6 % an (n.s.). Es ergab sich eine signifikante Änderung der ppTh zwischen den Gruppen (Placebo vs. Salz, $p=0,023$). Die Natriumausscheidung stieg in der Salzgruppe um 2,29 g pro Tag an ($p<0,0001$), was für eine gute Compliance der Proband*innen spricht. Die Parameter Substratverwertung, aufgenommene Energie- und Flüssigkeitsmenge, Urinvolumen, kardiovaskuläre Parameter und Körperzusammensetzung waren in keiner der Gruppen signifikant verändert.

Diskussion: Eine moderate Erhöhung der Salzzufuhr über 14 Tage führte zu einer verringerten ppTh nach einer standardisierten Testmahlzeit. Eine dauerhaft verringerte postprandiale Thermogenese bei hohem Salzkonsum könnte langfristig zu einer positiven Energiebilanz führen und zur Ausprägung von Übergewicht und Adipositas beitragen.

Introduction: High salt intake is an important risk factor for noncommunicable diseases. It leads to arterial hypertension, is associated with a higher cardiovascular mortality and is a potential risk factor for obesity independent of energy intake, though underlying mechanisms remain unclear. Diet-induced thermogenesis (DIT) accounts for about 10% of total energy expenditure. The following study investigates whether a high salt intake affects energy balance by decreasing DIT in healthy men and women and thus could benefit the development of obesity. Additionally, the effect of a high salt intake on cardiovascular parameters and body composition were examined.

Methods: 40 healthy subjects (20 men and 20 women) between 18 and 50 years were enrolled in a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. Subjects received either 6 g salt in capsules per day or placebo over 14 days on top of their normal diet. In a study visit before and after the intervention, resting energy expenditure and DIT over 4 hours after a 12-hour overnight fast and a standardized 440 kcal meal were measured by indirect calorimetry. Ambulatory blood pressure, pulse wave velocity, and body composition through bioelectrical impedance analysis were also obtained. Additionally, food intake from 3-day food records and 24h-urine-fractions over 3 days before the study visits were analyzed.

Results: 38 subjects (19 per group) completed the study. Salt intake from foods was 6 g per day in both groups before and after the intervention, resulting in a total salt intake of 12 g per day in the salt group and 6 g per day in the placebo group. While resting energy expenditure did not change in either group, DIT decreased by 1,3 % in the salt group ($p=0,048$) and increased by 0,6 % in the placebo group (n.s.). A significant difference in the change in DIT between the groups was observed (Salt vs. Placebo, 0,023). Urine sodium excretion increased by 2,29 g per day ($p<0,0001$) in the salt group, indicating good overall compliance. Substrate oxidation, fluid and energy intake, urine volume, body composition and cardiovascular parameters did not change in either of the groups.

Discussion: A moderate short-term increase of salt intake decreased the thermic effect of a standardized meal. A permanently reduced DIT could lead to a positive energy balance and contribute to weight gain and the development of obesity.

1. Einleitung

1.1. Natriumchlorid – Bedeutung für den Menschen

Kochsalz oder Natriumchlorid (NaCl) ist ein für den Menschen lebensnotwendiger Mineralstoff. Seit Jahrtausenden als Konservierungsstoff und als Gewürz genutzt, war es lange Zeit eines der wichtigsten Fernhandels Güter und hatte in vielen Teilen der Welt eine hohe kulturelle und politische Bedeutung. Salz brachte seinen Besitzern Einfluss und Reichtum und ist erst seit neuerer Zeit ein billig gewonnenes Alltagsprodukt (1).

Kochsalz besteht in gelöster Form aus Natrium- und Chloridionen (Na^+ und Cl^-). Als wichtigstes extrazelluläres Kation spielt Natrium im Körper des Menschen eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung des osmotischen Gleichgewichts, der Regulation des Wasserhaushalts und der Regulation des Säure-Basen-Haushalts. Der Natriumgradient zwischen Intra- und Extrazellulärraum ermöglicht durch die Bildung von Aktionspotentialen unter anderem die Reizweiterleitung im menschlichen Nervensystem. Dazu kommen wichtige Rollen bei der Muskel- und Verdauungsfunktion (2).

1.2. Regulation des Natriumhaushalts – Alte und neue Erkenntnisse

Der menschliche Körper enthält etwa 150–300 g NaCl. Hiervon ist etwa ein Drittel fest im Knochen gebunden, der Rest verteilt sich auf Plasma, Interstitium und Zellen. Natrium wird vom Menschen hauptsächlich über Kochsalz mit der Nahrung aufgenommen und zum großen Teil renal wieder ausgeschieden, weshalb der Salzhaushalt eng an den Wasserhaushalt gekoppelt ist. Wasser ist der Hauptbestandteil des menschlichen Körpers, macht je nach Alter, Geschlecht und Fettanteil etwa zwei Drittel der Gesamtkörpermasse aus und verteilt sich im Körper in verschiedenen Kompartimenten. Mehr als 60 % des Körperwassers befindet sich intrazellulär, der restliche Anteil ist extrazellulär. Während ein Großteil des extrazellulären Wassers als interstitielle Flüssigkeit die Zellen umgibt, zirkuliert ein kleinerer Teil im Gefäßsystem als Blutplasma. Die interstitielle Flüssigkeit steht mit den Körperzellen und dem Blutplasma im ständigen Stoffaustausch (2).

Das klassische Lehrbuchverständnis der Natriumregulation geht von der Vorstellung aus, dass intravasaler und interstitieller Raum ein einzelnes Kompartiment bilden, in dem sich Natriumionen gleichmäßig verteilen können. Der interstitielle Raum bietet den angrenzenden Zellen ein konstantes „inneres Milieu“. Um ein Anschwellen oder Schrumpfen der Zellen und folglich Zellschäden zu verhindern, muss der extrazelluläre osmotische Druck eng reguliert werden. Dies geschieht hauptsächlich über das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und eine renale Regulation der Natriumkonzentration, die beim Gesunden im Plasma zwischen 135 und

145 mmol/l liegt (2,3). Im etablierten Modell reagiert der Körper auf einen Anstieg des Körpertoniumgehalts zunächst mit einer gesteigerten Trinkmenge und einer erhöhten Produktion von antidiuretischem Hormon (3,4). Das fast ausschließlich extrazellulär akkumulierte Natrium bindet osmotisch Wasser und bewirkt somit über einen Anstieg des Körperwassers eine Gewichtszunahme. Überschüssiges Natrium wird anschließend schnell von interstitiell nach intravasal mobilisiert und renal ausgeschieden, bis das Gleichgewicht aus Zufuhr und Ausscheidung innerhalb weniger Tage wiederhergestellt ist. Nach bisher etablierter Lehrbuchmeinung unterliegt das Gesamtkörpertonium somit nur relativ kleinen Schwankungen (3,5).

Dieses Zweikompartiment-Modell war lange Zeit zur Erklärung der Natriumregulation etabliert, wurde aber in den letzten Jahren vermehrt in Frage gestellt. Neuere Studien zeigen, dass eine erhöhte Natriumzufuhr nicht zwangsläufig von einer entsprechenden Flüssigkeitsretention begleitet wird (6,7). Im Rahmen des zwischen 2007 und 2011 durchgeführten Mars-500-Experiments simulierten sechs freiwillige Proband*innen einen bemannten Flug zum Mars, wofür sie über 520 Tage in einem Komplex eingeschlossen wurden. Hierbei konnte über mehrere Monate die tägliche Salzzufuhr über die Ernährung genau kontrolliert und der gesamte Urin der Proband*innen gesammelt werden, was erstmals genaueste Bilanzstudien zum Salzhaushalt über einen so langen Zeitraum ermöglichte. Erstaunlicherweise zeigte sich hierbei, dass die tägliche Natriumausscheidung auch bei konstanter Natriumzufuhr rhythmischen Schwankungen unterliegt. Die Natriumausscheidung folgte unerwarteterweise keiner circadianen Rhythmik, sondern einer circaseptanen Rhythmik von ca. einer Woche (4). Größere Schwankungen des Körpertoniumgehalts wurden mit einer deutlich längeren Periodendauer von ca. einem Monat, einer sogenannten infradianen Rhythmik beobachtet (4,5,8). Sie wurden begleitet von Schwankungen der Gluco- und Mineralocortikoidspiegel, was auf eine endokrine Komponente in der Steuerung der Natriumausscheidung hinweist (4,9). Diese Ergebnisse legen nahe, dass sich Natrium durchaus osmotisch inaktiv interstitiell akkumulieren kann.

Passend dazu konnte eine wasserfreie Speicherung von Natrium in der Haut und Muskulatur spektrometrisch zunächst tierexperimentell gezeigt werden (10,11). Das Bindegewebe der Haut besteht als Grundsubstanz aus negativ geladenen Glykosaminoglykanen (GAGs) (12), an die Natriumionen binden können. Eine Natriumakkumulation wird begleitet von einem Anstieg, eine Mobilisierung von Natrium aus der Haut mit einer Abnahme der GAG-Dichte (10,13,14). Später konnte durch eine spezielle natriumsensitive Magnetresonanztomographie nicht-invasiv und ohne Kontrastmittel der Natriumgehalt im Gewebe dargestellt und relevante Natriumdepots in Muskeln, Haut (15) und Gehirn (16) nachgewiesen werden. Die Natriumakkumulation im Gewebe war hierbei mit einer höheren Krankheitsaktivität und einem höheren Alter assoziiert (16,17).

Insbesondere konnten Kopp et al. zeigen, dass Patienten mit bestehender essentieller Hypertonie einen höheren Natriumgehalt in Haut und Muskeln haben (17).

Diese Ergebnisse machen deutlich, dass der intravasale- und der interstitielle Raum zwei verschiedene Kompartimente bilden, der Salzhaushalt also in einem Dreikompartiment-Modell reguliert wird und auch extra-renale Regulationsmechanismen eine Rolle spielen müssen (3). Hierbei scheinen Immunzellen eine Schlüsselrolle einzunehmen. Bei einer interstitiellen Natriumakkumulation entsteht ein hypertones Milieu, in das Zellen des mononukleär phagozytierenden Systems infiltrieren (Machnik et al. 2009; Machnik et al. 2010; Wiig et al. 2013). Dort bewirken sie über eine verstärkte Transkription des Transkriptionsfaktors *tonicity enhancer binding protein* (TonEBP) eine Sekretion von *vascular endothelial growth factor-C* (VEGF-C). VEGF-C bewirkt durch eine Hyperplasie des Lymphkapillarnetzes eine verbesserte Elimination von Natrium aus der Haut und führt über die vermehrte Expression von endothelialer NO-Synthase zu einer Blutdrucksenkung (18,19). Eine Blockade dieses molekularen Mechanismus führte zu einer verstärkten Natriumakkumulation in der Haut und zu Salz-sensitiver Hypertonie (18–20). Ebenfalls TonEBP-vermittelt ist eine proinflammatorische Immunantwort mit einer Hochregulation Interleukin-17-produzierender T-Helferzellen (TH₁₇-Zellen), die unter Hochsalzbedingungen stattfindet (21,22). Zusätzlich kann Salz über eine Veränderung der mikrobiellen Zusammensetzung des Darms zu einer verstärkten TH₁₇-Aktivierung führen (23). TH₁₇-Zellen haben eine Schlüsselfunktion in der Ausbildung von Autoimmunkrankheiten, spielen aber auch bei der begleitenden Entzündungsreaktion in der Entstehung der arteriellen Hypertonie eine wichtige Rolle (24,25).

Diese Erkenntnisse verdeutlichen die Bedeutung der Natriumdepots als Ausdruck einer gestörten Körperzusammensetzung und zeigen mehrere mögliche Kausalzusammenhänge in der Genese verschiedener Krankheiten auf. Dadurch ergeben sich neue Erklärungsansätze für die pathologische Bedeutung von Salz, insbesondere in der Genese der Salz-sensitiven Hypertonie.

1.3. Salz als Risikofaktor für die Bevölkerungsgesundheit

Nicht-übertragbare Krankheiten (*noncommunicable diseases*, NCDs) sind für 71 % aller Todesfälle weltweit verantwortlich, was jährlich etwa 41 Millionen Menschen entspricht. Etwa 15 Millionen dieser jährlichen Fälle treten zwischen 30 und 69 Jahren auf. Ein Großteil dieser Todesfälle wird (in absteigender Häufigkeit) durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Krebserkrankungen, chronische Atemwegserkrankungen und Diabetes verursacht. NCDs weisen als gemeinsame Risikofaktoren eine Kombination aus genetischen, physiologischen und Umweltfaktoren auf (26). Eine ungünstige Ernährung ist ein wichtiger modifizierbarer

Risikofaktor für die Entstehung von NCDs. Der Einfluss verschiedener Ernährungsfaktoren auf NCDs wurde unter anderem durch lange prospektive Beobachtungsstudien intensiv untersucht (27). Ein Ernährungsfaktor, dessen Einnahme durch die Verbreitung der westlichen Ernährungsweise stark gestiegen ist, ist das Salz. Die westliche Ernährungsweise ist charakterisiert durch einen hohen Gehalt an gesättigten Fetten, tierischen Proteinen, Weißmehl, Zucker, Alkohol und Salz, sowie geringen Anteilen an Obst und Gemüse (28). Industriell hergestellte Lebensmittel und Fertiggerichte enthalten im Vergleich zu natürlichen Lebensmitteln ein Vielfaches an Salz. Menschen in Industrieländern nehmen über 75 % ihres Salzes durch industriell hergestelltes Essen und Fertiggerichte zu sich (29), die Weltgesundheitsorganisation (WHO) schätzt diesen Anteil in Europa sogar auf 80 % (30). In Japan und China leistet das Salzen zu Hause und die Verwendung von Sojasauce einen entscheidenden Beitrag zur Salzzufuhr (31).

Ein zu hoher Salzkonsum führt zu Bluthochdruck und wird mit der Ausbildung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen (32–35), zahlreichen immunvermittelten Erkrankungen im Tiermodell (36) und in klinischen Studien (37), aber auch Krebserkrankungen, z.B. dem Magenkarzinom (38) sowie Übergewicht und Diabetes (39–41) in Verbindung gebracht. Aufgrund der eindeutigen Evidenz für die gesundheitsschädigenden Folgen eines zu hohen Salzkonsums gibt es klare Empfehlungen zur optimalen Salzzufuhr. Im Rahmen öffentlicher Initiativen zur Reduktion des Salzkonsums empfiehlt die WHO eine Natriumzufuhr von unter 2 g pro Tag, was etwa 5 g Salz entspricht (42) und die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) eine Zufuhr von unter 6 g Salz pro Tag (43). Auch die europäische (44) klinische Leitlinie zur Behandlung der arteriellen Hypertonie beinhaltet eine Empfehlung zu einer Speisesalzzufuhr von unter 5 g pro Tag, während die amerikanische nur eine allgemeine Empfehlung zur Reduktion der Salzzufuhr ausspricht (45). Die WHO hat die weltweite Senkung des Salzkonsums als eine der wichtigsten Maßnahmen zur Prävention von NCDs definiert (46).

Demgegenüber steht der tatsächliche Salzkonsum, der in allen Teilen der Welt deutlich über der physiologischen Bedarfsmenge liegt und nahezu das Doppelte der empfohlenen Menge beträgt (31,47). Daten der Europäischen Kommission zeigen dass der Salzkonsum in einem Großteil der Europäischen Länder durchschnittlich zwischen 8 und 12 g pro Tag liegt, wobei er bei Männern durchweg höher ist als bei Frauen (48). In Deutschland beträgt der durchschnittliche tägliche Salzkonsum laut der seit 2008 durchgeführten Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS) bei Männern 10 g und bei Frauen 8,3 g pro Tag (49).

Die *Global-Burden-Of-Disease-Studie* (GBD-Studie) untersucht als umfassendste Studie zur Bevölkerungsgesundheit unter anderem den Einfluss von Ernährungsfaktoren auf vorzeitige Sterbefälle und versuchte die weltweite Sterblichkeit durch zu hohen Salzkonsum zu quantifizieren. In der GBD-Studie 2017 wurden im Jahr 2017 weltweit 11 Millionen Todesfälle nachteiligen Ernährungsfaktoren zugeschrieben. Die wichtigsten Ernährungsfaktoren, die einen

Einfluss auf die weltweite Sterblichkeit haben, sind demnach eine zu hohe Natriumzufuhr über Salz (3 Millionen Todesfälle pro Jahr), zu wenig Vollkornprodukte (3 Millionen Todesfälle pro Jahr) und zu wenig Obst und Gemüse (2 Millionen Todesfälle pro Jahr) (27).

1.4. Salz und Herz-Kreislauf-Erkrankungen

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind die häufigste Todesursache weltweit und stellen eine erhebliche gesellschaftliche und persönliche Belastung dar. Laut Schätzungen der WHO starben 2016 17,9 Millionen Menschen an den Folgen einer Herz-Kreislauf-Erkrankung, 85 % davon an einem Herzinfarkt oder einem Schlaganfall (50). Der Begriff Herz-Kreislauf-Erkrankung ist in der Humanmedizin nicht einheitlich definiert. Laut der ICD (*International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*) der WHO umfasst er im weitesten Sinne Erkrankungen des Herzens und der Gefäße. Zu diesen gehören die Koronare Herzkrankheit, der Schlaganfall und die transitorische ischämische Attacke, die periphere arterielle Verschlusskrankheit, rheumatische Herzerkrankungen, kongenitale Herzfehler und Erkrankungen des venösen Systems wie die tiefe Beinvenenthrombose und die Lungenarterienembolie (50). Einer der wichtigsten Risikofaktoren für Herz-Kreislauf-Erkrankungen ist die Arterielle Hypertonie. Sie ist definiert als ein dauerhaft erhöhter systolischer Blutdruck ≥ 140 mmHg und/oder ein dauerhaft erhöhter diastolischer Blutdruck ≥ 90 mmHg. Bluthochdruck betrifft weltweit über 1 Milliarde Menschen, weniger als einer von fünf Betroffenen unter Therapie die Zielwerte erreicht (51).

Die Atherosklerose ist eine multifaktoriell bedingte entzündliche Erkrankung der Gefäßwand, die zu einer Verengung und Verhärtung von Arterien und so zu einer Verschlechterung der Blutversorgung und Gefäßverschlüssen führt. Eine Reihe von Hauptrisikofaktoren gilt als ursächlich für die Atherosklerose. Neben dem Tabakkonsum, hohem Alter und genetischer Veranlagung werden einige besonders wichtige und verbreitete Risikofaktoren unter dem Begriff „Metabolisches Syndrom“ zusammengefasst. Hierzu gehören die Adipositas, Fettstoffwechselstörungen, Diabetes Mellitus und die Arterielle Hypertonie (52).

Die Rolle eines zu hohen Salzkonsums als Risikofaktor für Bluthochdruck gilt als gesichert. Dieser Zusammenhang wurde erstmals 1904 vorgeschlagen (53) und seitdem in epidemiologischen Studien (32,33) und Übersichtsarbeiten (54,55) bestätigt. In der INTERSALT-Studie zeigten Stamler et al. 1997, dass eine höhere Natriumausscheidung weltweit mit einem höheren Blutdruck assoziiert ist, insbesondere bei steigendem Alter (32). Mentz et al. bestätigten diesen Zusammenhang mit Daten der PURE-Studie ($n > 100.000$ in 18 Ländern), schlossen aber im Vergleich zu INTERSALT auch Menschen über 59 Jahren ein. Im Vergleich zu INTERSALT wurde ein steilerer Zusammenhang zwischen Natriumausscheidung und Blutdruck berechnet. Eine täglich um 1 g höhere Natriumausscheidung war mit einem um 2,11 mmHg höheren systolischen

und um 0,78 mmHg höheren diastolischen Blutdruck assoziiert. Dieser Effekt war umso größer je höher das Alter, Ausgangsblutdruck und Natriumausscheidung waren (33). Umgekehrt zeigen Metaanalysen randomisierter Studien, dass eine moderate Senkung der Salzzufuhr über einen längeren Zeitraum signifikante Blutdrucksenkungen unabhängig von Herkunft und Geschlecht bewirkt (56,57). Eine Senkung der Salzzufuhr um durchschnittlich 4,4 g/d für mindestens vier Wochen führte zu systolischen bzw. diastolischen Blutdrucksenkungen von 5,4 mmHg bzw. 2,8 mmHg bei hypertensiven und 2,4 mmHg bzw. 1,0 mmHg bei normotensiven Proband*innen (57). Die DASH-Studie (*Dietary Approach to Stop Hypertension*), in der die Salzzufuhr in über 400 Menschen mit Bluthochdruck graduell gesenkt wurde, zeigte dass die Blutdrucksenkung bei einer Salzzufuhr von 3 bis 13 g/d dosisabhängig geschieht (58,59).

Passend dazu zeigen Studien eine eindeutige Assoziation zwischen Salzkonsum und Herz-Kreislauf-Erkrankungen sowie kardiovaskulärer Mortalität. In den meisten bisherigen Studien wurden dazu die mit der Atherosklerose assoziierten Herz- und Gefäßkrankheiten wie Koronare Herzkrankheit und Schlaganfall untersucht. O'Donnell et al. zeigten in einer großen prospektiven Kohortenstudie ($n > 100.000$) dass eine zu hohe (> 6 g/d), interessanterweise aber auch eine zu niedrige (< 3 g/d) Natriumzufuhr mit einem höheren kardiovaskulären Risiko assoziiert ist (60). Dieser U-förmige Zusammenhang wurde in einer Metaanalyse aus 23 Querschnittsstudien und 2 Follow-ups aus randomisierten kontrollierten Studien ($n > 270.000$) bestätigt (61). Mente et al. zeigten darüber hinaus in einer Metaanalyse mit Daten vier großer prospektiver Kohortenstudien, dass der Salzeffekt auf das kardiovaskuläre Risiko in Menschen mit bestehendem Bluthochdruck besonders stark ausgeprägt ist (34). Mozaffarian et al. berechneten in einer Modellierungsstudie, dass 2010 etwa jeder zehnte Todesfall durch kardiovaskuläre Ursachen auf eine zu hohe tägliche Natriumzufuhr von über 2 g, also etwa 5 g Salz, zurückzuführen war. Dies entsprach 2010 weltweit etwa 1.65 Millionen Menschen (35). Neal und Wu et al. verglichen in einer großen clusterrandomisierten Studie 2021 mehrere kardiovaskuläre Endpunkte über 5 Jahre nach dem Verzehr von Kochsalz mit dem eines natriumärmeren „Kochsalzersatzes“, bestehend aus 75% NaCl und 25% KCl. Die Studie wurde in 600 chinesischen Dörfern an über 20000 Proband*innen durchgeführt, die über 5 Jahre ihren gesamten Salzbedarf (Kochen, Konservierung) entweder mit gewöhnlichem NaCl deckten oder ein kostenlos zur Verfügung gestelltes Ersatzprodukt (75% NaCl und 25 % KCl) verwendeten. Eingeschlossen wurden nur Proband*innen, die entweder einen stattgehabten Schlaganfall oder über 60 Jahre alt waren und Bluthochdruck hatten. Interessanterweise waren die Häufigkeit von Schlaganfall und kardiovaskulären Ereignissen sowie der Blutdruck in der Kochsalzersatzgruppe signifikant niedriger als in der Kochsalzgruppe. Die Kochsalzersatzgruppe hatte eine höhere Inzidenz an Hyperkaliämien. Dies schlug sich aber nicht in der Gesamtmortalität nieder, die in der Kochsalzgruppe signifikant höher war als in der Kochsalzersatzgruppe und den kardiovaskulären Nutzen des natriumarmen Kochsalzersatzproduktes unterstreicht (62).

Als wichtigste Ursache für die erhöhte kardiovaskuläre Mortalität, aber auch für die große Variation des individuell blutdrucksteigernden Salzeffekts wird die Salz-sensitive Hypertonie angesehen. Demnach reagieren nur Menschen mit bestimmten Voraussetzungen auf eine Salzbelastung mit einem Blutdruckanstieg. Die Definition der Salz-sensitiven Hypertonie ist nicht einheitlich geklärt, Studien zeigten allerdings dass etwa ein Viertel der normotensiven und die Hälfte der hypertensiven Population „salz-sensitiv“ sind (63,64). Die Ursachen hierfür sind weitgehend unverstanden – fortschreitendes Alter und afrikanische Herkunft wurden bisher am ehesten mit Salz-sensitiver Hypertonie in Verbindung gebracht (8,64). Weinberger et al. zeigten in einem 27-jährigen Follow-up, dass die Mortalität bei Salz-sensitiven Menschen unabhängig des Blutdrucks höher war als bei denen, die Salz-resistent waren (65). Dies deutet darauf hin, dass der rein blutdrucksteigernde Effekt von Salz nicht ausreicht, um die erhöhte kardiovaskuläre Mortalität bei hohem Salzkonsum zu erklären.

1.5. Salz und Adipositas

Fettleibigkeit oder Adipositas wird von der WHO seit 1997 als weltweite Epidemie bezeichnet (66), gilt in den meisten Ländern als eines der wichtigsten Gesundheitsprobleme unserer Zeit und ist ein Hauptrisikofaktor für Diabetes mellitus Typ 2, Bluthochdruck und Herz-Kreislauf-Erkrankungen (67). Der *Body Mass Index* (BMI), berechnet als das Körpergewicht (kg) geteilt durch die Körpergröße (m) zum Quadrat, ist die geläufigste Maßeinheit zur Einteilung der Adipositas. Ein BMI > 25 kg/m² wird als Übergewicht, ein BMI > 30 kg/m² als Adipositas definiert (68). Die Prävalenz der Adipositas hat sich weltweit seit 1975 fast verdreifacht und ist bei Kindern und Erwachsenen weiterhin steigend. 2016 waren weltweit ca. 39 % der erwachsenen Männer und Frauen übergewichtig. Dies entspricht 1,9 Milliarden Menschen, hiervon waren über 650 Millionen sogar fettleibig (68). Adipositas verursacht neben gesundheitlichen Schäden sowohl auf individueller als auch auf Bevölkerungsebene eine enorme ökonomische Belastung – diese wurde 2014 weltweit auf 20 Trillionen Euro geschätzt, was 2,8 % des weltweiten Bruttoinlandsprodukts entspricht (69). Grundsätzlich entsteht Übergewicht durch ein Ungleichgewicht zwischen aufgenommener und verbrauchter Energie. Auf globaler Ebene hat in den letzten Jahrzehnten ein vermehrter Konsum energiedichtere Lebensmittel mit hohem Fett- und Zuckeranteil, aber auch ein zunehmender Bewegungsmangel durch mehr sitzende Berufe, veränderte Transportformen und eine zunehmende Urbanisierung zu dieser Entwicklung beigetragen (68).

Mehrere Beobachtungsstudien und Übersichtsarbeiten deuten auf die Rolle eines hohen Salzkonsums als unabhängigen Risikofaktor für Übergewicht hin. In einer Metaanalyse aus dem Jahr 2016 wurde die Assoziation der Natriumzufuhr mit BMI und Hüftumfang in insgesamt 18 Studien an Kindern und Erwachsenen zwischen 2004 und 2018 untersucht. Eine höhere

Natriumzufuhr war bis auf eine Ausnahme in allen Studien bei Männern und Frauen mit einem höheren BMI assoziiert. Eine höhere Natriumzufuhr war zudem mit einem größeren Hüftumfang bei Frauen assoziiert, aber nicht bei Männern (40). Die Daten stammten größtenteils aus großen nationalen Verzehr- und Gesundheitsstudien, z. B. der USA (70), Korea (71,72) und UK (39).

Aus sorgfältigen Langzeitstudien ist bekannt, dass aufgrund der circaseptanen Rhythmik der Natriumausscheidung im Urin mehrere 24-Stunden-Fractionen notwendig sind, um die Natriumzufuhr genau abschätzen zu können (4,73). Eine Limitation vieler Querschnittsstudien ist demnach die ungenaue Abschätzung der Natriumzufuhr, die entweder durch Ernährungsprotokolle oder Einmalmessungen der Natriumkonzentration im Spontanurin bzw. Serum erfolgte. Häufig verwendete Modelle, die die 24-Stunden-Natriumausscheidung im Urin anhand einer Spontanurinprobe abschätzen, weisen teilweise erhebliche Ungenauigkeiten auf (74). Trotz der unterschiedlichen Schätzmethode für die Natriumzufuhr wurde in oben genannter Meta-Analyse kein methodenspezifischer Unterschied hinsichtlich der Effektstärke festgestellt (40).

Eine 2019 veröffentlichte Querschnittsstudie mit Daten der INTERMAP Studie untersuchte den Zusammenhang zwischen Salzzufuhr und BMI an 4680 Proband*innen aus Japan, China, UK und der USA, wobei zur Schätzung der Natriumzufuhr eine Kombination aus zwei 24-Stunden-Urinfractionen und Ernährungsprotokollen verwendet wurden. Durch diesen multizentrischen und methodisch hochwertigen Ansatz wurden häufige Limitation vorheriger Querschnittsstudien umgangen. In allen untersuchten Ländern bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen Salzzufuhr und BMI. Durchschnittlich war eine um 1 g höhere Salzzufuhr mit einem um 0,36 kg/m² höheren BMI und einem um 16 % höheren Risiko für Übergewicht (BMI > 25 kg/m²) assoziiert. Der Zusammenhang bestand unabhängig von Alter, Geschlecht und aufgenommener Energiemenge (75).

Bisher wurden nur wenige longitudinale Daten zu dieser Fragestellung veröffentlicht. Dänische Forscher fanden in zwei Follow-ups der MONICA-Kohorte, dass die Natriumausscheidung mit einer Zunahme des Körperfetts und einer Abnahme der fettfreien Masse assoziiert ist, jedoch nicht mit Veränderungen von Körpergewicht und Hüftumfang (76). Libuda et al. zeigten in einer Kohorte deutscher Kinder und Jugendlicher zwischen 2003 und 2009 zwar einen positiven Zusammenhang zwischen der Baseline-Natriumausscheidung und BMI sowie Körperfettgehalt, aber keinen Effekt eines Anstiegs der Natriumausscheidung über die Zeit auf diese Parameter (77).

Mechanistisch gibt es mehrere Erklärungsansätze für den positiven Zusammenhang zwischen Salzkonsum und Übergewicht. Eine besagt, dass eine Zunahme der Salzzufuhr zu einem höheren Konsum an zuckerhaltigen Softgetränken und somit einer höheren Kalorienaufnahme führt

(78,79). Diese Theorie fußt auf dem etablierten Erklärungsmodell zur Natriumregulation, wonach eine höhere Salzzufuhr zu einer größeren Trinkmenge führt (80). Demgegenüber stehen klinische Langzeitergebnisse im Rahmen der Mars500-Studie, bei denen mehr Salz zu einer geringeren Trinkmenge führte (81). In dazu passenden Mausexperimenten konnten Kitada et al. zeigen, dass ein Natriumüberschuss zwar zu einer Natriumkonzentrierung im Urin, aber ebenso zu einer erhöhten Produktion an Harnstoff, ebenfalls ein Osmolyt, führt. Die erhöhte Harnstoffproduktion erlaubt dem Körper die Konservierung von freiem Wasser und die Ausscheidung von überschüssigem Natrium in konzentriertem, natriumreichen und harnstoffarmen Urin (82). Ein weiterer Erklärungsansatz beruht darauf, dass salzhaltiges, häufig industriell hergestelltes Essen oft einen hohen Fettanteil hat und somit zu einer höheren Energieaufnahme führt. Zudem haben Studien gezeigt, dass das dopaminerge Belohnungssystem von Ratten beim Ausgleich eines Natriummangels aktiviert wird (83) und ein spezifischer Salz hunger auch beim Menschen eine Rolle spielen könnte (84,85). Allerdings fanden zwei Studien an einer französischen Kohorte heraus, dass keine Assoziation zwischen der Vorliebe für salziges Essen und dem Körpergewicht besteht, sondern vielmehr die Vorliebe für fetthaltiges und süßes Essen eine Rolle spielt (86,87).

Diese beiden Erklärungsansätze gehen davon aus, dass ein höherer Salzkonsum auch zu einer höheren Energiezufuhr führt. Dem gegenüber zeigen mehrere Studien anhand von multivariaten Modellen, dass der Zusammenhang zwischen Salzzufuhr und Übergewicht unabhängig von der aufgenommenen Energiemenge ist. Dies verstärkt die Evidenz für Salz als einen unabhängigen Risikofaktor für Übergewicht (39,71,75,77).

In Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass eine Hochsalzdiät bei gleicher Energieaufnahme bei Ratten neben einer Blutdrucksteigerung auch zu einer Größenzunahme der Adipozyten und zu einer Zunahme von weißem Fettgewebe führt. Zudem erhöht sie die Plasmaspiegel an Leptin, einem vom Fettgewebe produzierten Hormon, das bei der Steuerung von Hunger- und Sättigungsgefühl eine Schlüsselrolle spielt (88). Trotz der appetitzügelnden Wirkung von Leptin haben übergewichtige Menschen höhere Leptinspiegel im Blut (89) und die mechanistisch bisher unverstandene Leptinresistenz spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese von Adipositas (90). Passend dazu stimulierte Salz dosisabhängig in Adipozyten die Expression adipogener Gene sowie pro-inflammatorischer Adipocytokine und hemmte die Expression lipolytischer Gene, was letztendlich zu einer Fettakkumulation führt (91). Lanaspa et al. zeigten, dass in Mäusen unter einer Hochsalzdiät die körpereigene Fructose-Produktion in der Leber über Aktivierung des Aldosereduktase-Fructokinase-Stoffwechselwegs gesteigert war. Dies führte über Fructose-abhängige hohe Leptinspiegel zu einer Leptinresistenz und einer Gewichtszunahme, Insulinresistenz und Fettleber (92). Interessanterweise geschah die Aldosereduktase-Fructokinase-Aktivierung in der Leber TonEBP-vermittelt, einem Transkriptionsfaktor, mit dem der Körper auf hypertonen Stress reagiert und Makrophagenvermittelt in der Haut die

Natriumregulation durch Lymphangiogenese reguliert (19). Weitere Studien deuten ebenfalls verstärkt auf die Rolle von TonEBP in der Entstehung von Insulinresistenz und Übergewicht hin (93,94).

1.6. Fragestellung und Hypothesen

Betrachtet man die Studienlage, reicht der reine blutdrucksteigernde Effekt eines erhöhten Salzkonsums nicht aus, um die erhöhte kardiovaskuläre Sterblichkeit zu erklären. Die Mechanismen der mit höherem Salzkonsum assoziierten erhöhten kardiovaskulären Mortalität sind weitgehend unverstanden. Zudem fehlen überzeugende Erklärungsansätze für die Assoziation von Salzkonsum und Übergewicht, die in allen Teilen der Welt gezeigt wurde. Dass dieser Zusammenhang unabhängig von der Energieaufnahme zu sein scheint, legt die Vermutung nahe, dass Salz zu Veränderungen im systemischen Energiestoffwechsel führt und somit einen direkten metabolischen Effekt hat. Aus diesem Grund sollten alternative Ursachen für die erhöhte Salz-bedingte kardiovaskuläre Mortalität genauer untersucht werden.

In einer 2016 in der Clinical Research Unit des Experimental & Clinical Research Centers (ECRC) durchgeführten explorativen Studie mit acht gesunden Männern konnte gezeigt werden, dass eine Erhöhung der Salzzufuhr die postprandiale Thermogenese (ppTh) im Vergleich zum Ausgangswert signifikant vermindert. Dies ist relevant, da eine verringerte ppTh langfristig über eine positive Energiebilanz zu Adipositas führen (95,96) und so das kardiovaskuläre Risiko steigern kann.

Um diesen Befund zu verifizieren und auf eine mögliche Geschlechtsabhängigkeit hin zu überprüfen, wurde eine Placebo-kontrollierte, doppelblinde Studie an gesunden Männern und Frauen durchgeführt. Es wurde geprüft, ob eine um 6 g NaCl pro Tag erhöhte Salzzufuhr die ppTh in Männern und Frauen im Vergleich zu einem Placebo vermindert. Als etablierte kardiovaskuläre Parameter wurden der Blutdruck und die Pulswellengeschwindigkeit (*pulse wave velocity*, PWV) gemessen. Darüber hinaus wurde die Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) gemessen sowie eine Ernährungs- und Urinanalyse vorgenommen. Folgende Hypothesen wurden formuliert und Endpunkte definiert:

Primärhypothese (H1): Eine Erhöhung der Salzzufuhr (Kochsalz, NaCl) um 6 g pro Tag (d.h. 6 g NaCl zusätzlich zur gewohnten Ernährung) über 14 Tage

- beeinflusst die nahrungsinduzierte ppTh gesunder Proband*innen nach einer proteinreichen Testmahlzeit.

Sekundärhypothesen (H2): Eine Erhöhung der Salzzufuhr um 6 g pro Tag (d.h. 6 g NaCl zusätzlich zur gewohnten Ernährung) über 14 Tage

- führt zu einem Anstieg des systolischen Blutdrucks.
- führt zu einem Anstieg des diastolischen Blutdrucks.
- führt zu einem Anstieg der Gefäßsteifigkeit.
- führt nicht zu einem Anstieg der Energieaufnahme über die Ernährung.
- führt nicht zu einem Anstieg der Trinkmenge.
- führt nicht zu einem Anstieg des Wassergehalts im Körper.

Primärer Endpunkt:

- Verringerung der ppTh innerhalb von 4 Stunden in Prozent nach Einnahme einer proteinreichen Testmahlzeit nach 14-tägiger Salzeinnahme vs. Placebo, verifizierbar durch indirekte Kalorimetrie mittels Canopy-Verdünnungsmethode.

Sekundäre Endpunkte:

- Veränderungen des systolischen Blutdrucks nach 14-tägiger Salzeinnahme vs. Placebo, verifizierbar durch nicht-invasive Blutdruckmessung über 4 Stunden unter Ruhebedingungen.
- Veränderungen des diastolischen Blutdrucks nach 14-tägiger Salzeinnahme vs. Placebo, verifizierbar durch nicht-invasive Blutdruckmessung über 4 Stunden unter Ruhebedingungen.
- Veränderungen der Pluswellengeschwindigkeit nach 14-tägiger Salzeinnahme vs. Placebo, verifizierbar durch nicht-invasive Messung über 4 Stunden unter Ruhebedingungen.
- Veränderungen der aufgenommenen Energiemenge sowie der Anteile an Makro- und Mikronährstoffen vor und nach 14-tägiger Salzeinnahme vs. Placebo, verifizierbar durch Ernährungsanalyse mittels Freihand-Schätzprotokoll über jeweils drei aufeinanderfolgende Tage.
- Veränderungen der Trinkmenge vor und nach 14-tägiger Salzeinnahme vs. Placebo, verifizierbar durch Ernährungsanalyse mittels Freihand-Schätzprotokoll über jeweils drei aufeinanderfolgende Tage.
- Veränderungen der Urinvolumens und der Natriumausscheidung im Urin vor und nach 14-tägiger Salzeinnahme vs. Placebo, verifizierbar durch Laboranalysen im Sammelurin über jeweils drei aufeinanderfolgende Tage.
- Veränderung der Körperzusammensetzung und insbesondere des Wassergehalts im Körper vor und nach 14-tägiger Salzeinnahme vs. Placebo, verifizierbar durch BIA.

2. Material und Methoden

2.1. Proband*innenauswahl

Freiwillige Proband*innen wurden über Pressemitteilungen, Aushänge und Rundmails an ECRC, Charité, MDC bzw. Gesundheitscampus Berlin-Buch sowie im persönlichen Umfeld rekrutiert. Zusätzlich wurde die Proband*innendatenbank des Franz-Volhard-Centrums für klinische Forschung nach geeigneten Proband*innen durchsucht.

Studieninteressenten wurden zunächst telefonisch über Studienziel, Ablauf, eventuelle Risiken, Datenschutz, Einverständnis und Proband*innenversicherung aufgeklärt. Außerdem wurde Ihnen eine schriftliche Proband*inneninformation zugeschickt. Bestand nach ausreichender Bedenkzeit weiterhin Interesse an einer Studienteilnahme, wurden ein Termin für das Aufklärungsgespräch und die Voruntersuchung (Screening) vereinbart. Proband*innen erschienen zum Aufklärungsgespräch morgens um 9 Uhr nüchtern im Studienzentrum und bekamen eine fortlaufende Screening-Nummer. Sofern nach einer erneuten Aufklärung durch den Studienarzt keine Fragen mehr bestanden, unterschrieben sie die Einverständniserklärung in zweifacher Ausführung. Ein Exemplar verblieb im Studienzentrum, das andere beim Proband*innen. Im Anschluss erfolgte eine ärztliche Voruntersuchung. Diese bestand zunächst aus einer Anamneseerhebung mittels standardisierter Fragebögen und einer körperlichen Untersuchung. Anschließend wurden Körpergewicht, Körperhöhe, Taillen- und Hüftumfang gemessen. Daraus wurden der BMI und das Verhältnis von Taillen- zu Hüftumfang (*waist-hip ratio*, WHR) ermittelt. Es folgten die Aufzeichnung eines Elektrokardiogramms sowie die Messung von Blutdruck und Herzfrequenz. Weiterhin wurde den Proband*innen eine Blutprobe entnommen und sie wurden gebeten, eine Urinprobe abzugeben. Sofern die Einschlusskriterien erfüllt waren und keine Ausschlusskriterien vorlagen, wurde der Proband in die Studie eingeschlossen. Jeder eingeschlossene Proband bekam eine anonymisierte Studiennummer, unter der alle weiteren Einträge im Dokumentationsbogen vorgenommen wurden. Welcher Name zu welcher Studiennummer gehört, war während der Studie dem Studienleiter, den Studienärzten, den wissenschaftlichen Mitarbeitern und den Studienschwestern bekannt.

Aufklärung, Screening und alle weiteren Untersuchungen wurden im Clinical Research Center am ECRC Berlin durchgeführt. Von dort besteht ein direkter Zugang zur Notfallversorgung durch das HELIOS-Klinikum Buch. Alle in der Studie durchgeführten medizinischen Eingriffe entsprachen den Richtlinien der Deklaration von Helsinki. Proband*inneninformation und Einverständniserklärung wurden den geltenden Regeln entsprechend angefertigt und der Ethik-Kommission der Charité vorgelegt. Ein positives Ethikvotum der Ethik-Kommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin lag vor (EA1/304/15). Die Studie wurde in der Datenbank ClinicalTrials.gov über die NCT-Nummer NCT03024567 registriert.

2.2. Ein-, Ausschluss- und Abbruchkriterien

An der Studie konnten gesunde Männer und gesunde, prämenopausale Frauen zwischen 18 und 50 Jahren teilnehmen, die weder untergewichtig (BMI < 18,5) noch adipös (BMI ≥ 30) waren. Sie durften in keinem Abhängigkeitsverhältnis zum Studienleiter oder einem der Studienärzte stehen (z. B. Angestellte, Verwandte) und nicht gleichzeitig an einer anderen klinischen Studie teilnehmen. Im Falle einer zurückliegenden Studienteilnahme mussten vor dem Screening mindestens zwei Monate seit Ende der vorhergehenden Studie vergangen sein. Die genauen Ein- und Ausschlusskriterien der Studie sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1 Ein- und Ausschlusskriterien der Studie

Einschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> • Männer und prämenopausale Frauen • 18–50 Jahre • Body Mass Index 18,5–29,9 kg/m²
Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> • Krankheiten oder Funktionsstörungen, die nach Meinung des Studienarztes/ärztin eine Teilnahme an der Studie ausschließen • Schwere, manifeste und behandlungsbedürftige Erkrankungen • Postoperative Phasen • Akute und chronische Infektionen • Bekannte Blutungsneigung oder Einnahme von gerinnungshemmenden Medikamenten (PTT, INR und Thrombozyten werden vor Studienbeginn kontrolliert) • Panik- und Angstzustände in engen Räumen (Klaustrophobie) • Nahrungsmittelunverträglichkeiten • Spezielle Kostform aus medizinischen Gründen • Vegane Kost • Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln • Durchführung eines Diät- oder Gewichts-Reduktionsprogrammes • Änderung des Körpergewichtes von mehr als 2 kg im Vormonat der Studie • Bekannter Medikamenten-, Drogen- oder Alkoholabusus • Schwangerschaft und Stillzeit • Geschäftsunfähigkeit oder sonstige Umstände, die es Proband*innen nicht ermöglicht, Wesen, Bedeutung und Tragweite dieser Studie vollständig zu verstehen

Proband*innen konnten Ihre Studienteilnahme ohne Angabe von Gründen durch Widerruf der Einwilligung jederzeit beenden. Ebenso konnte die Studie durch einen Studienarzt aus medizinischen oder administrativen Gründen, wie dem nachträglichen Auftreten eines Ausschlusskriteriums (z. B. eine Erkrankung im Studienverlauf) oder eine nicht protokollgerechte Studiendurchführung abgebrochen werden.

2.3. Studiendesign

Es wurde eine individuell randomisierte Placebo-kontrollierte Doppelblindstudie durchgeführt, um die Auswirkungen einer erhöhten Salzzufuhr auf die ppTh, kardiovaskuläre Parameter, Ernährungs- und Urinparameter und die Körperzusammensetzung zu untersuchen. Nach Studieneinschluss wurden Proband*innen zufällig der Salz- oder Placebogruppe zugeordnet. Für 14 Tage nahmen sie zusätzlich zu ihrer normalen Ernährung pro Tag 6 g Salz oder Placebo ein. Vor und nach dieser 14-tägigen Interventionsphase fand eine Untersuchungsvisite (V1 bzw. V2) im Studienzentrum statt. Außerdem sammelten Proband*innen vor jeder Visite über jeweils drei aufeinanderfolgende Tage ihren 24-Stunden-Sammelurin und führten ein Ernährungsprotokoll.

Proband*innen erschienen zu den Visiten nüchtern um 8 Uhr im Studienzentrum. Die letzte Mahlzeit sollte am Vorabend der Visite bis 20 Uhr eingenommen werden. Außerdem sollten am Vortag bestimmte Nahrungsmittel (z. B. Alkohol, schwarzer Tee, Schokolade, Kaffee) sowie intensive sportliche Aktivitäten vermieden werden. Etwa 90 Minuten vor der Untersuchung sollten keine größeren Flüssigkeitsmengen (> 200 ml) mehr getrunken werden. Die Versuchszeit betrug pro Visite ca. fünf Stunden. Zu Beginn einer Visite wurde das aktuelle Tagesgewicht gemessen und die Körperzusammensetzung mittels BIA bestimmt. Danach folgten insgesamt fünf Messungen von Energieumsatz und Substratoxidation mittels indirekter Kalorimetrie. Zunächst wurde der Ruhe-Nüchtern-Umsatz (RNU) in einer 30-minütigen Messung bestimmt. Im Anschluss bekamen die Proband*innen eine proteinreiche Testmahlzeit, für deren Verzehr sie ca. 20 Minuten Zeit hatten. Danach wurden Energieumsatz und Substratoxidation mit vier 45-minütigen Messungen bestimmt. Zwischen den 45-minütigen Messperioden lagen jeweils 15 Minuten Pause. Als kardiovaskuläre Parameter wurden über die gesamte Versuchsdauer im 15-Minutentakt Blutdruck und PWV bestimmt. Alle Messungen von Energieumsatz, Körperzusammensetzung und kardiovaskulärer Parameter fanden im Liegen und in Ruhe statt.

Zur Einschätzung der täglichen Energie- und Nährstoffaufnahme sowie der Natriumausscheidung sammelten Proband*innen über jeweils drei Tage vor den Visiten ihren 24-Stunden-Sammelurin und führten simultan ein Ernährungsprotokoll als Freihand-Schätzprotokoll. Die entsprechenden Behälter für den Sammelurin und die Ernährungsprotokolle erhielten die Proband*innen im

Anschluss an das Screening. So konnten sie ihren dreitägigen Sammelurin und die dazugehörigen Ernährungsprotokolle aus Sammelphase 1 zur Visite 1 mitbringen. Im Anschluss an Visite 1 erhielten sie die Salz- bzw. Placebo-Kapseln und das Sammelmaterial für Sammelphase 2. Der Sammelurin und das Ernährungsprotokoll aus Sammelphase 2 wurden zusammen mit den verbliebenen Kapseln zur Visite 2 mitgebracht. Für eine protokollgerechte Studienteilnahme wurde eine Aufwandsentschädigung von 150 Euro gezahlt. Abbildung 1 zeigt das Visitenchema und die Inhalte der einzelnen Untersuchungs- und Sammeltage.

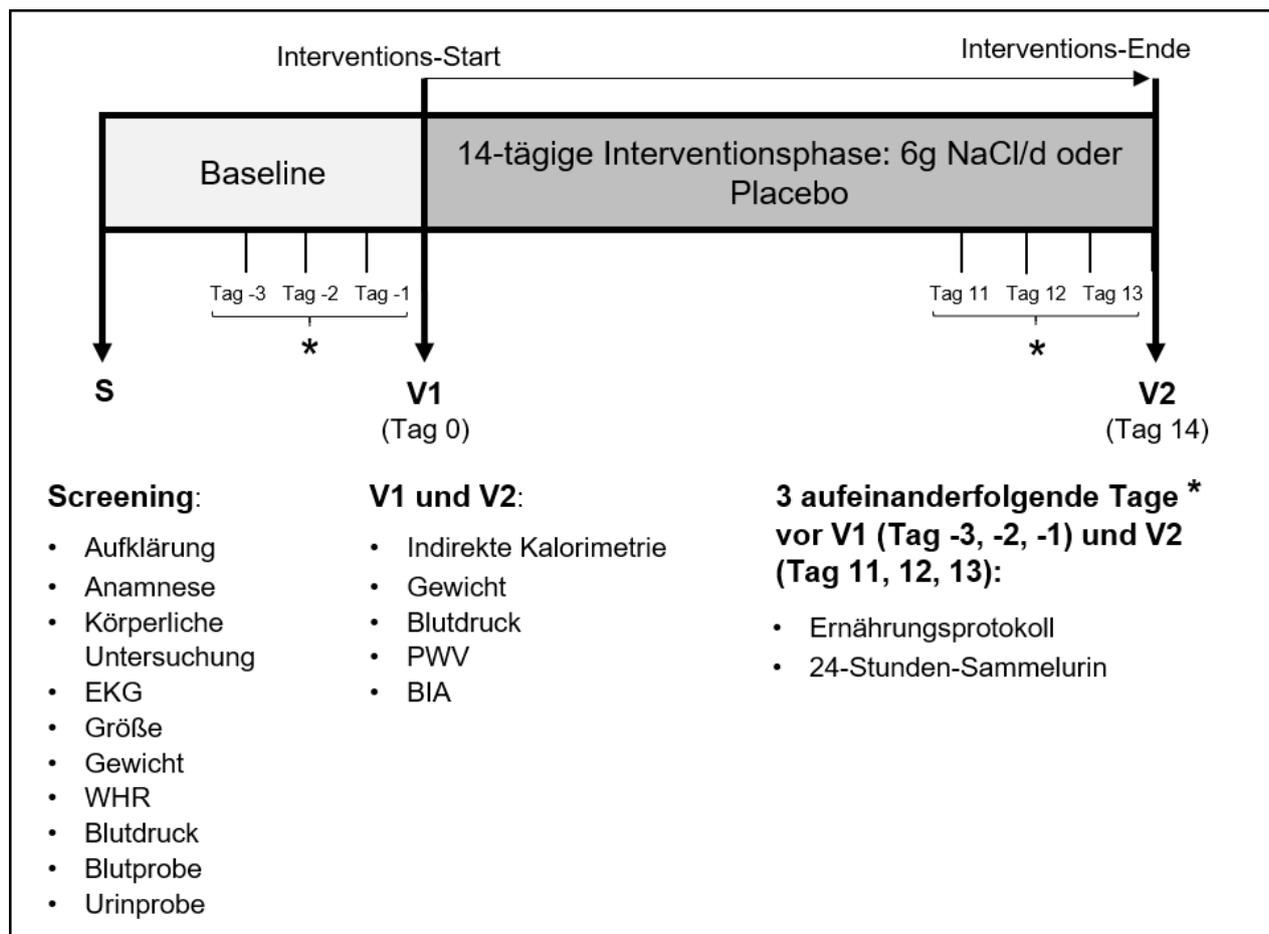


Abbildung 1 Studienablauf: Visitenchema und Inhalte der einzelnen Untersuchungstage. BIA: Bioelektrische Impedanzanalyse, EKG: Elektrokardiogramm, PWV: Pulswellengeschwindigkeit, S: Screening, V1: Visite 1, V2: Visite 2, WHR: waist-hip ratio

2.4. Prüfprodukte und Randomisierung

Die Erhöhung der Salzzufuhr erfolgte durch die Einnahme von NaCl in Form von Kapseln. Die Proband*innen nahmen in der 14-tägigen Interventionsphase morgens drei, mittags zwei und abends drei magensaftresistente Kapseln ein, die jeweils 750 mg NaCl enthielten. Dadurch kam es zu einer standardisierten Erhöhung der individuellen Salzzufuhr um 6 g pro Tag. Die identisch

erscheinenden Placebo-Kapseln enthielten Schweinegelatine (Gelatina alba A) und wurden in gleicher Weise eingenommen. Die Kapseln wurden von der Hubertus Apotheke (Hubertus Apotheke am Salzufer 13/14, 10587 Berlin) GMP-konform hergestellt und bereits randomisiert und mit fortlaufender Nummerierung an das Studienzentrum geliefert. Die Zuordnung der Proband*innen zur Salz- oder Placebogruppe erfolgte somit zufällig. Eine Randomisierungsliste befand sich während der gesamten Studie in einem Umschlag versiegelt im Studienzentrum. Nach Beendigung und Auswertung der Studie wurde offengelegt, welche*r Proband*in zu welcher Gruppe zugeordnet wurde. Dadurch wurde die größtmögliche wissenschaftliche Qualität bei Studiendurchführung und Auswertung sichergestellt.

2.5. Anthropometrische Messungen

Alle anthropometrischen Messungen erfolgten morgens und nach mindestens 12-stündiger Nahrungskarenz. Die Körpergröße wurde einmalig bei der Screening-Visite mit einer TÜV-geprüften Messstation (Seca 285 DP, Seca GmbH & Co. KG, Hammer Steindamm 3-25, 22089 Hamburg) im aufrechten Stand und ohne Schuhe ermittelt. Das aktuelle Tagesgewicht wurde bei allen Visiten mit derselben Messstation ermittelt. Aus diesen beiden Parametern berechnete sich der BMI, definiert als das Körpergewicht (kg) geteilt durch die Körpergröße (m) zum Quadrat. Zur Messung des Taillenumfangs wurde ein Maßband waagrecht in der Mitte der Distanz zwischen *Spina Iliaca anterior superior* und dem unteren Rippenbogen angelegt. Der Hüftumfang wurde im Stehen über dem *Trochanter major* des Oberschenkelknochens gemessen. Die WHR ist der Quotient aus Taillen- und Hüftumfang.

2.6. Indirekte Kalorimetrie

2.6.1. Die Komponenten des Energiestoffwechsels

Der menschliche Körper setzt kontinuierlich Energie um. Um Energie zu gewinnen, baut er Kohlenhydrate, Fette und Proteine zu variablen Anteilen und durch Oxidation ab. Die hierbei freiwerdende Energie wird für die ständige Regeneration von Adenosintri-phosphat (ATP) verwendet, das der Organismus für die Aufrechterhaltung seiner unverzichtbaren Lebensvorgänge benötigt. Ein weiterer Teil der umgesetzten Energie fällt für die zusätzliche Körperliche Aktivität an. Die auf diese Weise in 24 Stunden umgesetzte Energie, der sogenannte Gesamtenergieumsatz, setzt sich im Wesentlichen aus den drei Bestandteilen RNU, ppTh und Leistungsumsatz zusammen (97). Der Anteil der drei Hauptkomponenten an einem beispielhaften Tagesumsatz von 10000 kJ über 24 h ist in Abbildung 2 dargestellt.

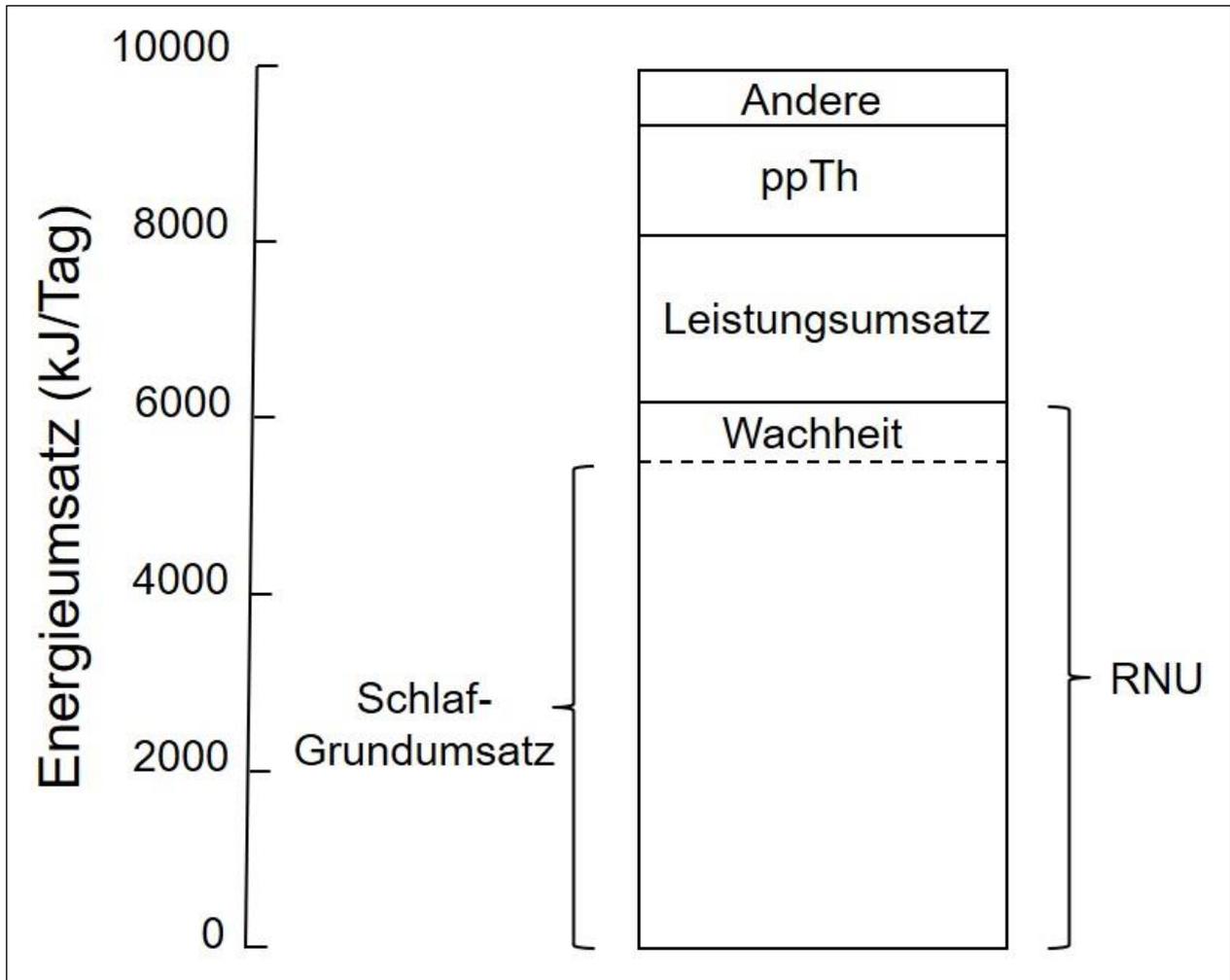


Abbildung 2: Die Komponenten des menschlichen Energiestoffwechsels: Schematische Darstellung eines täglichen Energieumsatzes von 10000 kJ mit seinen Bestandteilen. RNU: Ruhe-Nüchtern-Umsatz, ppTh: Postprandiale Thermogenese (modifiziert nach (97))

Der **RNU** macht mit 50–75 % den größten Anteil des Energieumsatzes aus. Er entspricht der Energiemenge, die der Körper für die Aufrechterhaltung der Grundfunktionen des Lebens im Ruhezustand benötigt. Hierzu gehören auf Zellebene unter anderem die Aufrechterhaltung osmotischer Gradienten und die Proteinsynthese, auf Organebene z.B. die Herz-, Atem- und Verdauungsfunktion. Eine reproduzierbare Bestimmung des RNU erfordert eine Messung im Liegen in völliger Ruhe nach nächtlicher, mindestens 12-stündiger Nahrungskarenz in thermoneutraler Umgebung (22–26°C). Im Vergleich zum Schlaf-Grundumsatz fließt in den RNU zusätzlich die minimale mentale und körperliche Aktivität mit ein, die der Mensch im wachen Ruhezustand erbringt. Der RNU ist im Wesentlichen abhängig von der metabolisch aktiven fettfreien Masse, aber auch von Geschlecht und Alter (98). Da Männer einen höheren Anteil an fettfreier FFM haben, haben Sie einen durchschnittlich höheren Ruheenergieverbrauch als Frauen (99).

Der **Leistungsenergieumsatz** macht abhängig von der physischen Aktivität 20–40 % des Gesamtenergieumsatzes aus und hängt hauptsächlich von der Dauer und Intensität der Muskelarbeit ab, die über den Grundenergieumsatz hinausgeht (97).

Die **ppTh** macht ca. 10 % des Gesamtenergieumsatzes aus und bezeichnet die Steigerung des Energieumsatzes nach der Nahrungsaufnahme (97). Diese beruht im Wesentlichen auf Verdauung, Resorption und Verstoffwechslung der Nahrungsbestandteile. Verdauung und Verstoffwechslung verschiedener Nährstoffe sind mit einem unterschiedlichem Energieaufwand verbunden. Deshalb variiert die ppTh je nach aufgenommenem Nährstoff und beträgt für Proteine ca. 18–25 %, für Kohlenhydrate 4–7 % und für Fette 2–4 % der aufgenommenen Energiemenge (100). Zu diesem nährstoffabhängigen Anteil der ppTh kommt ein fakultativer Anteil dazu, der einer Wärmeproduktion entspricht (101,102).

2.6.2. Prinzip

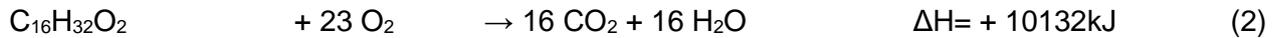
Die Messungen des Energiestoffwechsels erfolgten mittels indirekter Kalorimetrie und wurden mit dem Kalorimeter Cosmed Quark RMR anhand der Verdünnungsmethode mithilfe einer Haube (Canopy) durchgeführt. Die Canopy-Verdünnungsmethode stellt den Goldstandard für die Bestimmung des Energieumsatzes im klinischen Setting dar. Die Messgenauigkeit des verwendeten Gerätes im Vergleich zu etablierten Geräten wurde in Studien validiert (103).

Die Kalorimetrie beschreibt prinzipiell die Messung von Wärmemengen, die in einem biologischen Prozess, z.B. bei der Verbrennung von Nährstoffen, freigesetzt oder hinzugefügt werden. Man unterscheidet die direkte und die indirekte Kalorimetrie, wobei die direkte Kalorimetrie die vom Organismus direkt abgegebene Wärmemenge misst. In der hier vorliegenden Studie wird der Energieverbrauch durch Messung der bei der Reaktion verbrauchten Sauerstoff- und anfallenden Kohlendioxidmengen mit Hilfe der indirekten Kalorimetrie gemessen. Dies geschieht über eine kontinuierliche Messung der O₂- und CO₂-Konzentrationen der Atemluft. Die Methode beruht auf der Tatsache, dass bei der Oxidation eines bestimmten Nährstoffs immer in gleichen Verhältnissen Sauerstoff verbraucht und Kohlendioxid produziert wird. Dabei spielt es keine Rolle, ob die Reaktion sofort oder in mehreren Teilschritten hintereinander abläuft (97). In den Gleichungen 1-3 sind die Reaktionsgleichungen der chemischen Reaktionen dargestellt, die bei der Oxidation von Kohlenhydraten (Glucose), Fetten (Palmitinsäure) und Proteinen (Alanin - Aminosäure) ablaufen.

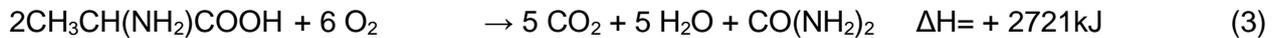
Glucose:



Palmitinsäure:



Alanin:



Für jeden Nährstoff gilt bei dessen Verstoffwechslung ein bestimmtes Verhältnis von produziertem CO_2 zu verbrauchtem O_2 . Dieses Verhältnis wird durch die *Respiratory Exchange Ratio* (RER) in Gleichung 4 angegeben.

$$\text{RER} = \frac{V_{\text{CO}_2} \text{ (ml/min)}}{V_{\text{O}_2} \text{ (ml/min)}} \quad (4)$$

Ist die RER bekannt, kann dem Oxidationsprozess in der Zelle der Abbau eines bestimmten Nährstoffs zugeordnet werden. Bei der Oxidation von Kohlenhydraten wird für jedes Mol verbrauchten Sauerstoffs 1 Mol Kohlendioxid abgegeben, die RER liegt also bei 1. Bei reiner Oxidation von Fetten, wie es z.B. im Nüchtern- und Fastenzustand vorkommt, liegt die RER bei 0,7 und bei ausschließlicher Eiweißoxidation bei 0,83. In der Praxis spielt die Proteinverwertung nur in extremen Situationen (Fasten, exzessive Proteinzufuhr) eine Rolle. Für ihre Bestimmung muss die Stickstoffausscheidung im Harn bekannt sein (97,104). Bei gemischter Kost, also einem Gemisch aus Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen ergibt sich eine RER von 0,82.

Als kalorische Äquivalent bezeichnet man die Energiemenge, die bei der Verbrennung von 1l Sauerstoff im Organismus freigesetzt wird. Sie ist nährstoffabhängig und wird in kJ/l O_2 angegeben. Das kalorische Äquivalent bestimmter Nährstoffe ist bekannt, da für jeden Nährstoff stets ein Gleichgewicht aus verbrauchtem Sauerstoff und gebildeter Energiemenge besteht. Mit Hilfe der Kenntnis des für die Energiegewinnung verwerteten Nährstoffs und der verbrauchten Sauerstoffmenge somit die umgesetzte Energiemenge in kJ über Gleichung 5 berechnet werden.

$$\text{Energieumsatz (kJ)} = \text{Sauerstoffverbrauch (l } \text{O}_2) \times \text{kalorische Äquivalent (kJ/l } \text{O}_2) \quad (5)$$

In Tabelle 2 sind die bei der Oxidation der Makronährstoffe anfallenden Gaswechsel sowie das kalorische Äquivalent und die RER dargestellt. Da unsere Nahrung immer ein Nährstoffgemisch ist, beträgt das kalorische Äquivalent bei mitteleuropäischer Mischkost etwa 20,2 kJ/l O₂. In der Praxis müsste stets die genaue Nährstoffzusammensetzung der verwerteten Nahrung bekannt sein, um den Energieumsatz mit Gleichung 5 genau zu bestimmen. Da dies nicht immer möglich ist, berechnet bei der indirekten Kalorimetrie das Kalorimeter den Energieumsatz mithilfe einer allgemeinen in Gleichung 6 dargestellten Formel, die die im Untersuchungszeitraum erfolgte Stickstoffausscheidung (N) mit einbezieht.

$$\text{Energieumsatz (kJ)} = aV_{\text{O}_2} (\text{l}) + bV_{\text{CO}_2} (\text{l}) - cN \quad (6)$$

$$a = 15,9$$

$$b = 5,2$$

$$c = 4,65$$

Die Stickstoffausscheidung erfolgt im Körper zum Großteil über die Harnstoffausscheidung und muss für die Berechnung des Energieumsatzes mit Gleichung 6 bekannt sein. Dafür wurde durch das verwendete Kalorimeter für den Untersuchungszeitraum eine empirisch ermittelte Stickstoffausscheidung von 2 g/6 h verwendet.

Tabelle 2 Gaswechsel, kalorisches Äquivalent und RER bei der Oxidation der Makronährstoffe. RER: Respiratory Exchange Ratio

Oxidation von 1 Gramm	O ₂ -Aufnahme (l)	CO ₂ -Abgabe (l)	Kal. Äquivalent (kJ/l O ₂)	RER (VCO ₂ /VO ₂)
Kohlenhydrat	0,829	0,829	20,8	1
Fett	2,013	1,431	19,6	0,7
Protein	0,957	0,774	19,4	0,81

2.6.3. Durchführung

Die kalorimetrischen Messungen erfolgten an den Visitentagen zwischen 9:00 und 14:00 Uhr. Der Messung ging stets die Kalibrierung des Kalorimeters voraus, die aus einer Gas- und einer Turbinenkalibrierung bestand. Die Gaskalibrierung erfolgte mithilfe eines standardisierten Kalibrationsgases mit bekannter Zusammensetzung (16 % O₂, 5 % CO₂). Die Turbinenkalibration ist eine Volumenkalibration, bei der mit einer 3l-Handpumpe ein genau definiertes Luftvolumen durch die Turbine gepumpt und gemessen wird.

Vor Beginn jedes Messintervalls wurden die Fenster des Untersuchungszimmers geschlossen, um Zugluft zu vermeiden und die atmosphärischen Bedingungen konstant zu halten. Alle Messungen fanden nach 12-stündiger Nahrungskarenz statt. Eine optimale Vergleichbarkeit wurde erreicht, indem Proband*innen angehalten wurden, als letzte Mahlzeit am Vortag der Untersuchung bis spätestens 20 Uhr ein standardisiertes Abendessen (Brot, Käse, Wurst, Gemüse, Wasser oder Tee) zu sich zu nehmen. Da Alkohol und Koffein den Energieumsatz beeinflussen (105), sollten am Vortag der Messung kein Alkohol getrunken und, außer zum Frühstück, auf Kaffee verzichtet werden. Am Morgen der Messung durften Proband*innen maximal ein Glas Wasser (200 ml) trinken und sollten ansonsten nüchtern zur Untersuchung erscheinen. Da der Energieumsatz nach körperlicher Anstrengung erhöht ist (106), durften Proband*innen am Vortag keinen intensiven Sport treiben und sollten am Morgen der Messung komplett auf Sport verzichten. Dies bedeutete, dass sie nicht z.B. mit dem Fahrrad zur Untersuchungsvisite kommen durften. Da in Studien gezeigt werden konnte dass auch Schlafentzug den Energieumsatz beeinflusst (107), wurden Patienten angehalten in der Nacht vor der Messung mindestens sechs Stunden zu schlafen.

Die kalorimetrischen Messungen wurden am im Bett liegenden Proband*innen durchgeführt. Dabei lag der Kopf unter einer ventilierten, durchsichtigen Haube, die mit einer Pumpe verbunden ist und über ein Ein- und Auslassventil verfügt (Abbildung 3). Durch das Einlassventil wird von der Pumpe konstant eine an die Proband*in angepasste Menge Frischluft angesaugt. Die Saugstärke der Pumpe wird vom Untersucher so gewählt, dass unter der Haube eine bestimmte CO_2 -Konzentration herrscht, in dem das Messgerät die höchste Messgenauigkeit aufweist ($\text{FeCO}_2 \sim 0,9$). Unter der Haube vermischt sich die eingesaugte Frischluft mit der Expirationsluft des Proband*innen. Dieses Gasgemisch wird über das Auslassventil, das über einen Schlauch mit dem Kalorimeter verbunden ist, in das Kalorimeter eingesaugt. Dort wird aus regelmäßig gewonnenen Gasproben die jeweilige Sauerstoff- und Kohlendioxidkonzentrationen gemessen. Durch Probenahme an der Rückseite des Gerätes werden auch in der umgebenden Raumluft die Gaskonzentrationen bestimmt und anschließend durch Differenzbildung Sauerstoffverbrauch (VO_2) und Kohlendioxidproduktion (VCO_2) ermittelt.



Abbildung 3 Positionierung bei der indirekten Kalorimetrie nach der Canopy-Verdünnungsmethode

Die Messung des Energieumsatzes begann mit der 30-minütigen Messung des RNU. Diese wird idealerweise morgens und in thermoneutraler Umgebung am ruhenden, wachen und nüchternen Patienten gemessen. Der RNU wird vom Messgerät sowohl als Absolutwert (in kcal/d), als auch als Anteil (in %) eines individuell berechneten prädiktiven Wertes ($RNU_{\text{präd}}$) angegeben. $RNU_{\text{präd}}$ berechnete sich nach der Harris-Benedict-Formel mithilfe der Parameter Größe, Gewicht, Geschlecht und Alter (108). Diese 1918 veröffentlichte Formel ist heute noch eine in der Ernährungsmedizin häufig verwendete und etablierte Näherung für die Berechnung des RNU. Sie ist für Männer in Gleichung 7 und für Frauen in Gleichung 8 angegeben:

$$RNU_{\text{präd}} \text{ (kcal/d)} = 66,47 + [13,7 * \text{Gewicht (kg)}] + [5 * \text{Größe (cm)}] - [6,8 * \text{Alter (Jahre)}] \quad (7)$$

$$RNU_{\text{präd}} \text{ (kcal/d)} = 65,51 + [9,6 * \text{Gewicht (kg)}] + [1,8 * \text{Größe (cm)}] - [4,7 * \text{Alter (Jahre)}] \quad (8)$$

Nach Verzehr der Testmahlzeit wurde der Energieumsatz der Proband*innen für weitere 240 Minuten gemessen. Dies geschah in vier kontinuierlichen 45-minütigen Messungen, zwischen denen jeweils 15 Minuten Pause lagen. Der in dieser Zeit gesteigerte Energieverbrauch wird als ppTh bezeichnet. In den Pausen zwischen den Messungen konnten Proband*innen aus dem Bett

aufstehen, durften aber keine größeren Strecken zurücklegen, um den Energieumsatz nicht zusätzlich zu steigern. Um den Einfluss einer Sympathikus-vermittelten Steigerung des Energieumsatzes infolge einer Magendehnung zu minimieren, durften Proband*innen in den Pausen zusammen nicht mehr als 125 ml Wasser trinken.

Während der Messung waren die Proband*innen angehalten, sich möglichst wenig zu bewegen, nicht zu sprechen und nicht zu schlafen. Da eine Undichtigkeit der Haube die Messgenauigkeit stark beeinträchtigt, wurde sorgfältig auf eine luftdichte Abdichtung gegenüber der Umgebung geachtet und diese regelmäßig überprüft. Nach Abschluss der kontinuierlichen Messung wurden die Messwerte gefiltert und der Durchschnittswert für jedes 1-Minutenintervall gebildet. Danach wurden auf standardisierte Art und Weise alle Extremwerte und Artefakte ausgeschlossen, bevor die Mittelwerte der 15-minütigen Intervalle gebildet wurden. Mit diesen wurde die endgültige Auswertung durchgeführt.

Um die Genauigkeit der sensiblen Messsensoren des Kalorimeters regelmäßig zu überprüfen, wurde zweiwöchentlich eine Eichung des Geräts durchgeführt. Hierbei wurden exakt 5 ml 95 % Ethanol unter einer an das Kalorimeter angeschlossenen Glashaube verbrannt. Mithilfe der von Ethanol bekannten RER von 0,67 konnte die gemessene mit der real abgegebenen Energiemenge verglichen werden. Eine Abweichung von weniger als 5 % wurde als eine akzeptable Eichung angesehen.

2.7. Bioelektrische Impedanzanalyse

Die Messung der Körperzusammensetzung erfolgte mittels phasensensitiver BIA. Für dieses nicht-invasive Verfahren wurde das BIA-Gerät Biacorus RX 4000 (MEDI CAL Healthcare GmbH, Karlsruhe) verwendet. Basierend auf dem 3-Kompartiment-Modell der Körperzusammensetzung (Abbildung 4) kann mithilfe der BIA die Fettmasse, die Fettfreie Masse und das Gesamtkörperwasser bestimmt werden (109,110).

Das 3-Kompartiment-Modell teilt den Körper in die Kompartimente Fettmasse (*fat mass*, FM), Körperzellmasse (*body cell mass*, BCM) und Extrazellulärmasse (*extracellular mass*, ECM) auf. BCM und ECM bilden zusammen die Fettfreie Masse (*fat free mass*, FFM). Die BCM setzt sich aus den membranumhüllten stoffwechselaktiven Zellen des Körpers zusammen. Sie umfasst die Skelettmuskulatur und die Zellen der Organe und besteht zum größten Teil aus Wasser. Die ECM besteht hauptsächlich aus extrazellulärer Flüssigkeit, Knochen und Bindegewebe. Das Gesamtkörperwasser (*total body water*, TBW) umfasst das Intra- (*intracellular water*, ICW) und das Extrazellulärwasser (*extracellular water*, ECW) (111).

Die Untersuchung eines möglichen Salzeffekts auf die Körperzusammensetzung ist relevant, da die FFM neben Geschlecht und Alter die wichtigste Variable des RNU darstellt (98). Zudem sollten neuere Erkenntnisse der Natriumregulation überprüft werden, wonach eine Erhöhung der Salzzufuhr nicht zwangsläufig zu einer Erhöhung des Körperwassers führt (3), sondern durch eine interstitielle Akkumulation in der Pathogenese verschiedener Krankheiten relevant werden könnte (16,17,19).

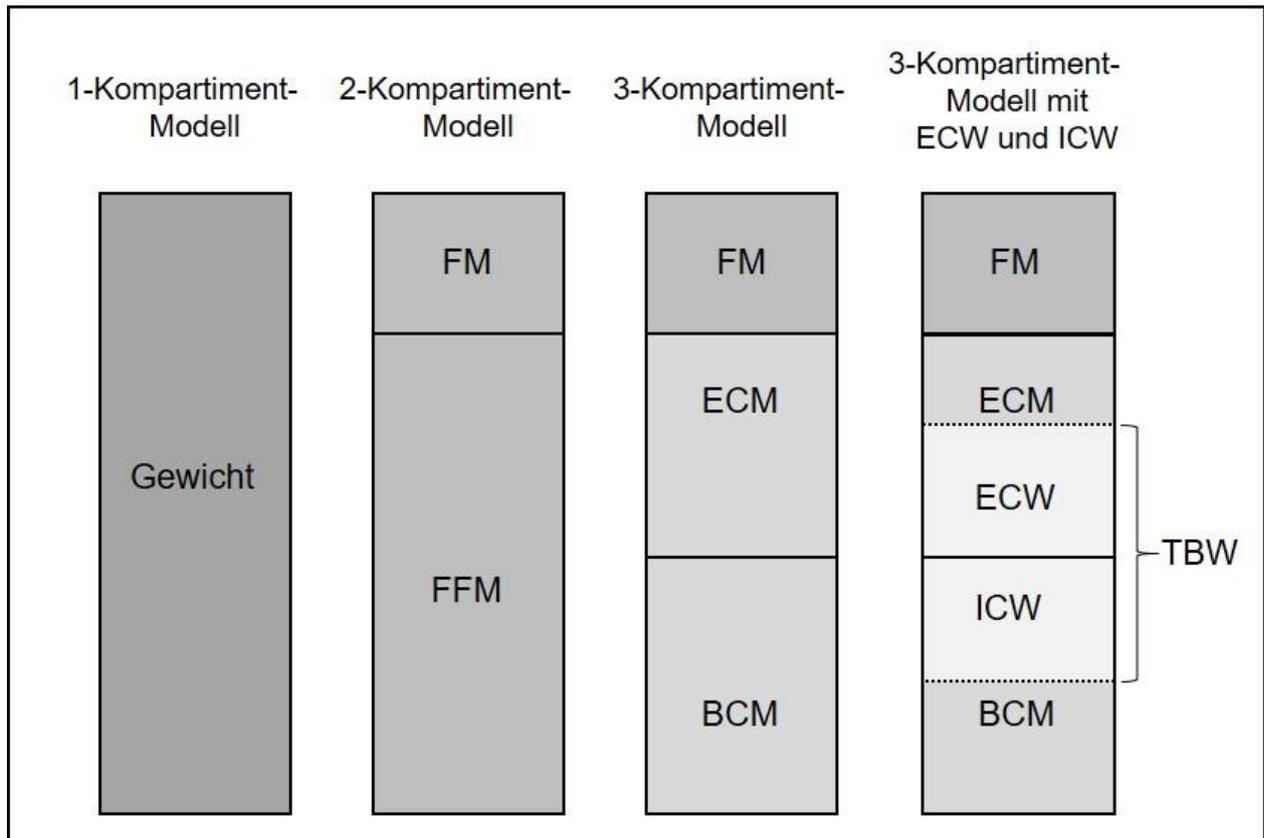


Abbildung 4 Kompartiment-Modelle der Körperzusammensetzung. BCM: *body cell mass*, Körperzellmasse; ECM: *extracellular mass*, Extrazellulärmasse; ECW: *extracellular water*, Extrazellulärwasser; FFM: *fat free mass*, Fettfreie Masse; FM: *fat mass*, Fettmasse; ICW: *intracellular water*, Intrazellulärwasser; TBW: *total body water*, Gesamtkörperwasser

2.7.1. Prinzip

Bei der BIA wird über Elektroden an Hand- und Fußgelenken ein elektrischer Wechselstrom an den Körper angelegt und die Widerstände gemessen. Die Funktionsweise der BIA beruht auf der unterschiedlichen elektrischen Leitfähigkeit verschiedener Körperkompartimente (112). Der Widerstand, den der Körper einem durch ihn geleiteten Wechselstrom entgegensetzt, wird als Impedanz bezeichnet. Die Impedanz setzt sich aus einem induktiven Widerstand (Resistanz, R_x) und einem kapazitiven Widerstand (Reaktanz, X_c) zusammen (113). Bei der phasensensitiven BIA werden neben den Impedanzkomponenten Resistanz und Reaktanz (beide in Ohm) auch der

Phasenwinkel PA (in °) bestimmt (114). Die Resistanz entspricht dem Ohmschen Widerstand der nicht zellulär gebundenen Körperflüssigkeit und ist ein Maß für das gut leitfähige ECW (115). Die Reaktanz entspricht dem Widerstand der schlechter leitfähigen Körperzellen und erlaubt Rückschlüsse auf die BCM und das ICW (109). Der Phasenwinkel entspricht der Phasenverschiebung zwischen Wechselstromstärke und Wechselstromspannung und ermöglicht die Unterscheidung von Resistanz und Reaktanz (116). Aus den gemessenen Werten von Resistanz, Reaktanz und Phasenwinkel können unter Berücksichtigung von Geschlecht, Alter, Größe und Gewicht die einzelnen Körperkompartimente errechnet werden.

Bei ansonsten gleichen Impedanzwerten sind für die exakte Bestimmung der Körperkompartimente sowohl die Anthropometrie als auch der Ernährungs- und Hydratationszustand der Proband*innen maßgeblich (117,118). Die verwendete Auswertungssoftware (BodyComp V 9.0, MEDI CAL Healthcare GmbH, Karlsruhe) ordnet deshalb allen Proband*innen abhängig von ihrer individuellen Anthropometrie ein Nomogramm zu, welches die Normalverteilung von Resistanz und Reaktanz graphisch darstellt. Diese populationsspezifischen Dichteellipsen basieren auf einer Referenzpopulation, die ähnliche anthropometrische Werte wie die auszuwertende Person hat. In der Datenbank der verwendeten Software sind hierfür ca. 273000 Messungen gesammelt. Bei jeder Auswertung filtert die Software aus dieser Datenbank nach den Parametern Alter, Größe, Geschlecht und Körperfettanteil die jeweiligen Werte heraus und erstellt automatisch zur untersuchten Person eine passende Referenzellipse (119). Dadurch wird eine genauere Bestimmung der für die Umrechnung von Widerständen auf Körperkompartimente benötigten Umrechnungsformeln ermöglicht. Diese Möglichkeit unterschiedliche Körper-Symmetrien zu erkennen und spezifisch auszuwerten stellt einen Vorteil zu herkömmlichen BIA-Geräten dar.

2.7.2. Durchführung

Proband*innen sollten vor der Messung alle metallischen Gegenstände vom Körper ablegen und ihre Harnblase leeren. Um eine gleichmäßige Verteilung der Körperflüssigkeiten zu erzielen, mussten sie mindestens zehn Minuten in der Horizontalen liegen, bevor die Messung im Liegen durchgeführt werden konnte. Nach der Entfettung mit herkömmlichem Desinfektionsspray wurden an Hand- und Fußrücken je eine distale und eine proximale Hautklebe-Elektrode (BIA Classic Tabs, MEDI CAL Healthcare GmbH, Karlsruhe) angeklebt. Die distalen stromgebenden Elektroden wurden knapp proximal der Metacarpophalangealgelenke bzw. der Metatarsophalangealgelenke zwischen zweitem und drittem Strahl und in einem Abstand von mindestens 3–5 cm zur proximalen Elektrode platziert. Die proximalen Elektroden sind die Messelektroden, die den Spannungsabfall des von den distalen Elektroden erzeugten Stromflusses messen. Sie wurden wie in der Literatur beschrieben an der Hand distal an eine gedachte Linie durch den *Processus styloideus ulnae*, am Fuß distal an eine gedachte Linie durch den *Malleolus medialis* angelegt

(119). Die exakte Positionierung der Elektroden entscheidend ist für eine Verlaufsmessung, wie sie in dieser Studie stattfand, da bereits ein Versatz der Messelektroden um 2 mm die Resistanz um 2–3 Ohm verändern kann (119).

Über Klemmen wurde ein schwacher Wechselstrom (Stromstärke: 0,8 mA, Frequenz: 50 kHz) angelegt und die Widerstände im Körper zwischen den Klebeelektroden gemessen. Entsprechend der vom Hersteller vorgeschriebener Weise (119) waren während der Messung die Arme ca. 30° vom Körper abgespreizt, während die Beine in einem Winkel von ca. 45° zueinander lagen, um einen gegenseitigen Kontakt zu vermeiden. Während der ca. einminütigen Messung durften die liegenden Proband*innen den stromleitenden Bettrahmen nicht berühren und sich nicht bewegen. Während der Messung wurden die Werte für Resistanz und Reaktanz im Prüfbogen notiert und anschließend mit Hilfe der oben genannten Software ausgewertet.

2.8. Ernährungsanalyse

Die Berechnung der täglichen Nahrungsaufnahme erfolgte mithilfe eines Freihand-Schätzprotokoll, das den Proband*innen nach abgeschlossenem Screening ausgehändigt wurde. Die Schätzmethode ist die in der Ernährungsmedizinischen Praxis am häufigsten verwendete Art des Ernährungsprotokolls (120). Alle Proband*innen sollten über jeweils drei aufeinanderfolgende Tage vor den Visiten ihre gesamte zugeführte Nahrung und Getränke dokumentieren. Als Mengenangaben konnte die verzehrte Menge in g bzw. ml geschätzt oder gebräuchliche Haushaltsmaße verwendet werden. Bei der Auswertung wurden diese Haushaltsmaße anschließend in das geschätzte Gewicht umgerechnet. Um die Mengen der verzehrten Lebensmittel besser einschätzen zu können, bekamen alle Proband*innen eine Liste ausgehändigt, die 200 der gängigsten Lebensmittel und deren Portionsgrößen in üblichen Haushaltsmaßen enthielt. Die Auswertung und Ernährungsanalyse erfolgten mithilfe der Auswertungssoftware OptiDiet Version 5.0.2.010. Der Auswertung liegt eine Datenbank zugrunde, in der übliche Lebensmittel und Gerichte sowie deren Nährstoffgehalt verzeichnet sind, womit detaillierte Analysen der Makro- und Mikronährstoffe möglich sind. Das beim Kochen oder Nachsalzen verwendete Salz sollte nicht extra dokumentiert werden, da die üblicherweise verwendete Salzmenge bei der Auswertung der Gerichte und Speisen von der verwendeten Software bereits eingerechnet wird.

In der Praxis weichen die in Ernährungsprotokollen erhobenen Daten häufig von der Wirklichkeit ab. Als häufigste Fehlerquelle ist das *underreporting* zu nennen, bei der Proband*innen einen geringeren Lebensmittelverzehr als der Wahrheit entsprechend angeben. Davon ist das *undereating* abzugrenzen, bei dem Proband*innen während des Untersuchungszeitraumes weniger essen und somit eine negative Energiebilanz schaffen. Umgekehrt ist auch ein

overreporting und *overeating* möglich. Um möglichst genaue Daten zu erhalten, wurde im Aufklärungsgespräch ausführlich auf genannte Fehlerquellen eingegangen und den Proband*innen das korrekte Ausfüllen der Ernährungsprotokolle erklärt. Mehrmalige Gewichtskontrollen im Studienverlauf (Screening, V1, V2) und ein Vergleich der Ernährungsdaten mit Referenzwerten der deutschen Normalbevölkerung (121) ermöglichten eine teilweise Kontrolle eines *under-* und *overeating* sowie von *underreporting*. Eine weitere mögliche Fehlerquelle stellt die programmspezifische Datenbank dar, in der Nährstoff- und Energiegehalt einzelner Lebensmittel und Gerichte vorgegeben, aber nicht standardisiert ist (120).

Speisesalz stellt die Hauptzufuhrquelle von Natrium in der Ernährung dar und ist für 90 % des aufgenommenen Natriums verantwortlich. Während die WHO hat für die Salzzufuhr eine klare Empfehlung von unter 5 g Speisesalz pro Tag ausspricht (42), empfiehlt die DGE eine Salzzufuhr von unter 6 g pro Tag (43). Die tatsächliche Salzzufuhr in der deutschen Bevölkerung liegt deutlich darüber und wurde in der DEGS auf 10,0 g pro Tag für Männer und 8,4 g pro Tag für Frauen geschätzt (49).

Von besonderem Interesse war die Frage, ob die Studienpopulation im Hinblick auf die aufgenommene Salz- und Gesamtenergiemenge eine repräsentative Stichprobe der Gesamtbevölkerung darstellt und ob sie sich den Empfehlungen der DGE entsprechend bedarfsgerecht ernährte. Ferner sollte untersucht werden, ob sich die Gesamtenergiemenge und die aufgenommene Natriummenge innerhalb der Gruppen im Verlauf der Studie ändert. Die Natriumausscheidung in 24-Stunden-Urinfractionen, die über dieselben Untersuchungszeiträume analysiert wurde (siehe 2.9.), konnte hier als unabhängiger „Standard“ verwendet werden. Da Natrium zum Großteil über den Urin ausgeschieden wird, konnte durch Abgleich der Natriumausscheidung mit der Natriumeinnahme eine teilweise Validierung der Ergebnisse der Ernährungsanalyse erreicht werden.

2.9. 24-Stunden-Sammelurin

Parallel zum Ernährungsprotokoll sammelten Proband*innen zweimal über drei Tage ihren gesamten Urin in 24-Stunden-Fractionen. Da der Körper Natrium hauptsächlich renal ausscheidet, konnte die Natriumausscheidung im Urin als Maß für die erfolgte Natriumzufuhr genommen werden. Zusätzlich sollte untersucht werden, ob Urinvolumen und -osmolarität durch die kurzzeitig erhöhte Salzzufuhr beeinflusst sind. Da ein Mittelstrahlurin dafür nicht ausreicht, musste die Quantifizierung mittels 24-Stunden-Sammelurin erfolgen. Klinische Langzeitstudien konnten zeigen, dass die tägliche Natriumausscheidung auch bei konstanter Zufuhr Schwankungen mit einer mehrtägigen (circaseptanen) Rhythmik unterliegt (4). Um Rückschlüsse auf die tägliche Natriumzufuhr durch die Urinanalyse zu ermöglichen waren somit in vorliegender Studie

24-Stunden-Fractionen an drei aufeinanderfolgenden Tagen vor und nach der Interventionsphase notwendig.

Für das Sammeln der 24-Stunden-Fractionen erhielten die Proband*innen im Studienzentrum entsprechende Sammelbehälter. Jede neue 24-Stunden-Fraktion wurde in einem neuen Behälter gesammelt. Der Morgenurin am ersten der drei Sammeltage wurde in die Toilette verworfen, kam jedoch an den folgenden Sammeltagen in den Behälter des Vortages. Zusätzlich zur ermittelten Gesamturinmenge wurden im Sammelurin laborchemisch die Parameter Natrium, Harnstoff, Osmolarität, Kreatinin, Gesamteiweiß und Albumin bestimmt. Die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate GFR wurde auf Grundlage des gemessenen Kreatinin-Wertes mit Hilfe der CKD-EPI-Formel (9) bestimmt:

$$\text{GFR} = 141 \times \min(\text{SKr}/\kappa, 1)^\alpha \times \max(\text{SKr}/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0.993^{\text{Alter}} \quad (9)$$

Mithilfe der Natriumkonzentration im Urin (mmol/l), dem täglichen Urinvolumen (l) und der Molaren Masse von Natrium (g/mol) wurde die tägliche Natriumausscheidung in g berechnet, die von besonderem Interesse war. Da die Natriumausscheidung Rückschlüsse auf die Natriumzufuhr ermöglicht, konnte sie zusammen mit der Ernährungsanalyse als teilweise Validierung der Compliance der Salzgruppe hinsichtlich der Kapseleinnahme verwendet werden.

2.10. Blutentnahmen und Urinproben

Im Rahmen des Screenings wurde zur Überprüfung möglicher Ausschlusskriterien von allen Proband*innen eine Blut- und Urinprobe gewonnen. Die venöse Blutabnahme erfolgte mittels Butterfly-Kanüle. Es wurden neben einem großen Blutbild die Routine-Laborparameter Nüchtern-Glucose, Blutfette, Elektrolyte, Aminotransferasen, Kreatinin, Gerinnungsparameter und Harnstoff bestimmt.

Die Urinprobe wurde aus Mittelstrahlurin in einen Becher abgegeben. Der Urinstatus bestand aus einer Harnstix- und einer Sedimentuntersuchung. Die Bestimmung der Standardparameter in Blut und Urin wurde vom Labor 28 (Labor 28 GmbH, Mecklenburgische Straße 28, 14197 Berlin) durchgeführt.

2.11. Blutdruck und Gefäßsteifigkeit

In vorliegender Studie wurde untersucht, ob bereits eine kurzzeitige Erhöhung des Salzkonsums um 6 g pro Tag über zwei Wochen sich auf kardiovaskuläre Risikoparameter auswirkt. Die Blutdruckmessung umfasste den systolischen (RR_{sys}) und diastolischen Blutdruck (RR_{dia}) sowie den arteriellen Mitteldruck (MAP) in mmHg. Als weitere kardiovaskuläre Parameter wurden die PWV in m/s und der periphere Widerstand in $Pa \cdot s/m^3$ als Maß für die Gefäßsteifigkeit sowie die Herzfrequenz gemessen.

Die Messung aller kardiovaskulären Parameter erfolgte in beiden Visiten während der Kalorimetrie alle 15 Minuten über einen Zeitraum von jeweils 5 Stunden im Liegen. Als Beginn der Messung wurde der Beginn der Bestimmung des RNU definiert. Zu diesem Zeitpunkt konnten sich Blutdruck und Herzfrequenz schon über ca. 15 Minuten an die Ruhebedingungen im Liegen anpassen. Für die Messung wurde ein automatisches oszillometrisches Gerät (Mobil-o-Graph, I.E.M. GmbH, Stolberg, Deutschland) verwendet. Es wurde den Proband*innen zu Beginn der Visite angelegt und anschließend standardisiert ausgewertet. Das Gerät besteht aus einer Blutdruckmanschette, die am Oberarm angelegt wird, einem Druckschlauch, der die Manschette mit dem Messgerät verbindet, sowie einem Schultergurt, an dem das Messgerät befestigt ist und der den Proband*innen umgelegt wird.

2.12. Testmahlzeit

Die Testmahlzeit diente dazu im Rahmen der Kalorimetrie die ppTh zu ermitteln, die als Anteil der Energiemenge der Testmahlzeit in % angegeben wurde. Eine exakte Bestimmung der ppTh setzt somit die Kenntnis des Energiegehalts und der Nährstoffzusammensetzung der Testmahlzeit voraus. Die Testmahlzeit bestand aus einer genau vorgegebenen Menge Roggenmischbrot, Butter, Schnittkäse, Magerquark und Gurke, die standardisiert zubereitet wurde. Die Steigerung des Energieumsatzes im Rahmen der ppTh ist nährstoffabhängig und liegt für gemischte Kost bei 8–15 %. Für die einzelnen Makronährstoffe gelten folgende Energieumsatzsteigerungen (100):

Nährstoff	ppTh (%)
Fette	2–4
Kohlenhydrate	4–7
Proteine	18–25

Da die ppTh nach einer Proteinmahlzeit am höchsten ist, wurde für die Studie eine proteinreiche Testmahlzeit mit einem Proteingehalt von 20 % gewählt. Somit wurde eine möglichst hohe ppTh erreicht, deren Änderung die primäre Zielvariable der Studie darstellt. Die in der Testmahlzeit enthaltenen Nährstoffmengen wurden mit ihrer nährstoffspezifischen Energie mithilfe der Software OptiDiet Version 5.0.2.010 berechnet und sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3 Anteil, Menge und Energiegehalt der Makronährstoffe in der Testmahlzeit

Nährstoff	Spezifische Energie (kcal/g)	Energieanteil an Gesamtenergie	Menge (g)	Energie (kcal)
Fette	9,3	30 %	14,2	132,3
Kohlenhydrate	4,1	50 %	53,8	220,5
Proteine	4,1	20 %	21,5	88,2
Gesamt		100 %	89,5	441

Proband*innen hatten für den Verzehr der Testmahlzeit 15 Minuten Zeit. Da die Verdauungs- und Resorptionsgeschwindigkeit der Nahrung im Menschen temperaturabhängig ist wurde sichergestellt, dass die Testmahlzeit stets 30 Minuten vor Verzehr zubereitet wurde und zum Verzehr Raumtemperatur hatte.

2.13. Fallzahlplanung

Als primäre Zielvariable wurde die ppTh in % der über die Testmahlzeit aufgenommenen Energiemenge innerhalb von 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit festgelegt. Für die Analyse der primären Zielvariablen wurden die Daten nach Einnahme von Salz mit denen nach Einnahme von Placebo gepoolt.

In der explorativen Vorstudie (siehe 1.5.) betrug die ppTh gesunder Männer basal 16 % und postinterventionell nach erhöhter Salzeinnahme 11 %. In vorliegender Studie war somit eine Effektgröße von 5 % und eine standardisierte Effektgröße von 0,95 erwartbar. Legt man den α -Fehler auf 0,05 und den β -Fehler auf 0,10 fest, ergibt sich eine Mindestfallzahl von 12. Da Primär- und Sekundärvariablen mit einem nichtparametrischen Test (Mann-Whitney-U-Test) ausgewertet werden sollten, wurde die Fallzahl um 15 % erhöht. Um auch sekundäre Zielvariablen mit einer höheren Varianz sicher testen zu können, wurde die Fallzahl pro Geschlecht um weitere 6 erhöht. Eine Fallzahl von 20 Männern und Frauen schien geeignet, den Effekt mit einer statistischen Power von 90 % nachzuweisen.

2.14. Datenverarbeitung und statistische Analyse

Die statistische Auswertung und grafische Aufbereitung der Daten erfolgte mit Microsoft Excel und GraphPad Prism Version 8.4.2. Unterschiede innerhalb einer Gruppe zwischen beiden Visiten (V1 vs. V2) wurden mit dem Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben analysiert. Gruppenunterschiede (Salz vs. Placebo) wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben analysiert. Prüfung auf Unterschiede der Differenz zwischen den Visiten (V2 – V1) über einen Zeitverlauf, z.B. bei der Betrachtung der Änderung des Energieumsatzes und der Substratverwertung über 240 Minuten, erfolgte mittels mehrfaktorieller Varianzanalyse (two-way ANOVA).

Alle im Text aufgeführten und tabellarisch dargestellten Ergebnisse werden als Mittelwerte \pm Standardabweichung (*standard deviation*, SD) angegeben. Grafisch dargestellte Ergebnisse über einen Zeitverlauf werden als Mittelwerte \pm Standardfehler der Mittelwerte (*standard error of the mean*, SEM) angegeben. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wird als statistisch signifikant angesehen.

2.15. Hardware

Seca 285 DP (Seca GmbH & Co. KG, Hamburg, Deutschland) – Stadiometer

Biacorpus RX 4000 (MEDI CAL Healthcare GmbH, Karlsruhe, Deutschland) – BIA-Gerät

BIA Classic tabs (MEDI CAL Healthcare GmbH, Karlsruhe, Deutschland) – BIA-Elektroden

Cosmed Quark RMR (COSMED, Rom, Italien) – Kalorimeter

Mobil-o-Graph (I.E.M. GmbH, Stolberg, Deutschland) – Blutdruckmessung, PWV

2.16. Software

OptiDiet 5.0.2.010

Hypertension Management Software (HMS) 5.0

BodyComposition 9.0

Graphpad Prism 8.4.2

Microsoft Office 2019

Mendeley Desktop 1.19.4

3. Ergebnisse

3.1. Vorbemerkung

Da die explorative Vorstudie (siehe 1.6.) ausschließlich an Männern durchgeführt wurde und für den primären Endpunkt geschlechtsspezifische Unterschiede vermutet werden konnten, wurden in der vorliegenden Studie Männer und Frauen zunächst getrennt voneinander randomisiert. Nach Entblindung der Studie und Auswertung der Daten stellte sich heraus, dass es in der primären Zielvariable keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen gab. Daraufhin wurde beschlossen, in der weiteren Auswertung keine geschlechtsspezifische Trennung vorzunehmen.

3.2. Studienverlauf

Zwischen Januar 2017 und Dezember 2017 wurden 50 Proband*innen gescreent. Davon wurden nach Beurteilung der Eignung 20 Männer und 20 Frauen in die Studie eingeschlossen. 19 Männer und 19 Frauen schlossen die Studie protokollgerecht ab. Ein männlicher Proband erkrankte während der 3-tägigen Sammelphase vor Visite 2 und musste die Studie abbrechen. Die Erkrankung stand nicht im Zusammenhang mit den Interventionen im Rahmen des Studienprotokolls. Eine weibliche Probandin tolerierte das bewegungslose Liegen unter der Atemhaube des Kalorimeters im Rahmen der Visite 2 schlecht und musste nach Abschluss der Visite wegen Protokollverletzungen ausgeschlossen werden. Sie litt während der Messung an erheblicher Nervosität und Kopfschmerzen, nahm Schmerzmittel (Ibuprofen) ein, trank erhebliche Mengen Wasser (ca. 1l) und schlief während der Messung für ca. 60 min ein.

Die Entwicklung der Proband*innenzahlen nach Ein- und Ausschluss im Verlauf der Studie ist als CONSORT-Flussdiagramm (122) in Abbildung 5 dargestellt. Nach Entblindung der Studie bildeten jeweils 19 Proband*innen die Placebo- und Salzgruppe. Von allen 38 Proband*innen, die die Studie abschlossen, wurden die Kalorimetrie-, Ernährungs-, BIA- und Urindaten ausgewertet. Aufgrund technischer Probleme konnten die Daten der Blutdruck- und Herzfrequenzmessung von drei Proband*innen nicht in die Auswertung eingehen. Ebenso konnten wegen technischer Probleme die Daten der Messung von Pulswellengeschwindigkeit und peripherem Widerstand von 7 Proband*innen nicht in die Auswertung eingehen.

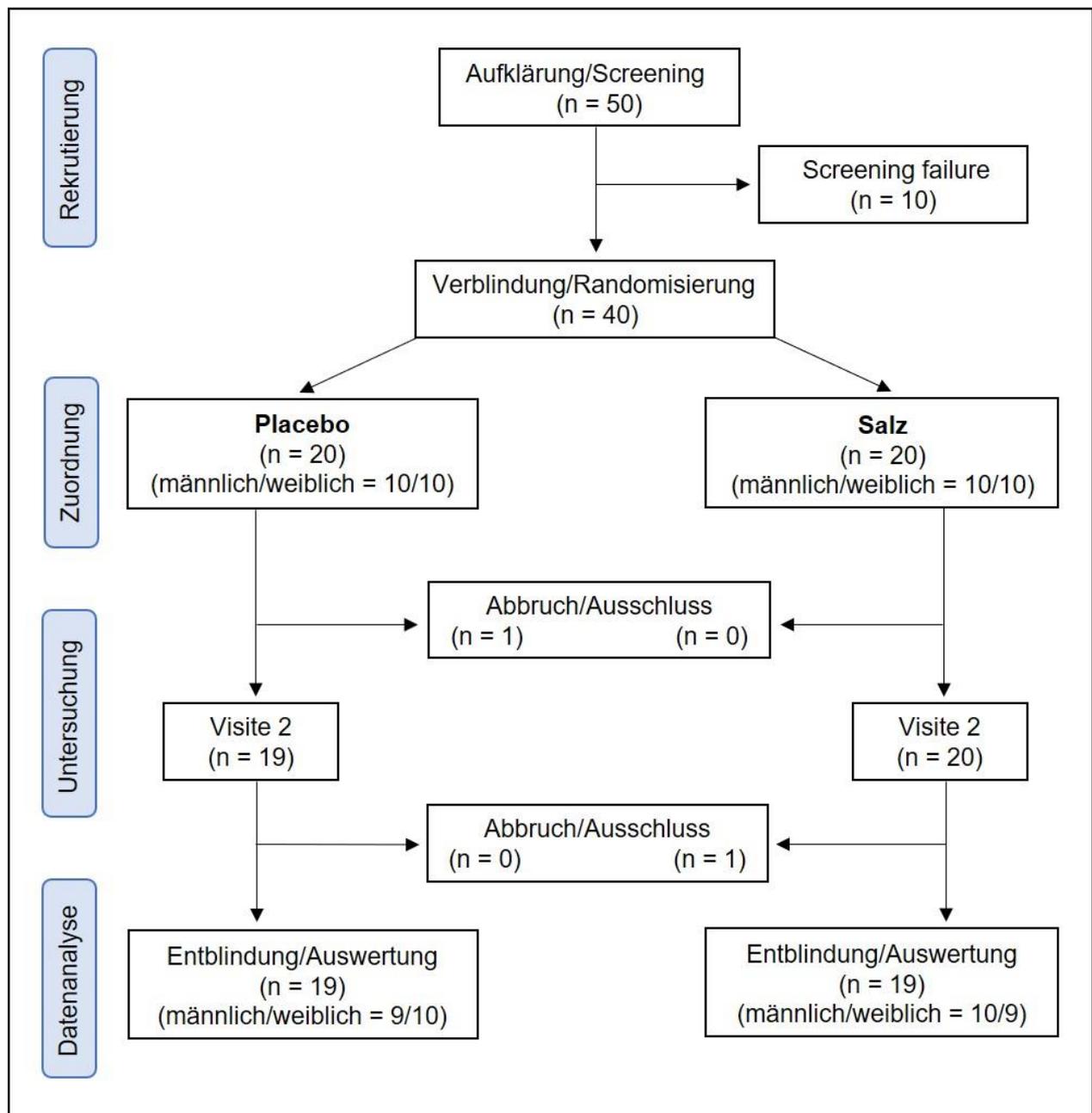


Abbildung 5: CONSORT-Flussdiagramm: Entwicklung der Proband*innenzahlen im Studienverlauf

3.3. Basisparameter

In Tabelle 4 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der gemessenen anthropometrischen Basisparameter dargestellt. Das angegebene Körpergewicht wurde im Rahmen der Screening-Untersuchung gemessen. Alle der gemessenen Basisparameter stimmten zwischen Salz- und Placebogruppe weitgehend überein. Der BMI der Proband*innen der Placebogruppe betrug $23,1 \pm 2,1 \text{ kg/m}^2$, der der Salzgruppe betrug $23,3 \pm 2,7 \text{ kg/m}^2$. Aufgrund

der Ähnlichkeit aller Basisparameter kann von einer guten Übereinstimmung der Gruppen ausgegangen werden. Somit sind in der folgenden Auswertung Gruppenunterschiede wahrscheinlicher auf einen Salzeffekt als auf unterschiedliche Baseline-Charakteristika zurückzuführen.

Die untersuchten Männer waren durchschnittlich von 31 ± 7 Jahre, die untersuchten Frauen 29 ± 6 Jahre alt. Es gab weder innerhalb noch zwischen den Gruppen einen relevanten Altersunterschied zwischen Männern und Frauen. Dies war für die Vergleichbarkeit von Placebo- und Salzgruppe wichtig, da in der Auswertung keine weitere geschlechtsspezifische Trennung vorgenommen wurde. In der folgenden Darstellung der Studienergebnisse werden die Ergebnisse von Placebo- und Salzgruppe voneinander getrennt dargestellt.

Tabelle 4: Anthropometrische Basisparameter der gesamten Studienpopulation (n=38), der Placebo- (n=19) und der Salzgruppe (n=19). WHR: *waist-hip ratio*. Die Daten sind als Mittelwerte \pm SD angegeben

	Gesamte Studienpopulation	Placebo	Salz
Männer/Frauen (n)	19/19	9/10	10/9
Alter (Jahre)	30 ± 6	29 ± 6	32 ± 7
Größe (cm)	173 ± 9	172 ± 9	174 ± 10
Gewicht (kg)	$69,7 \pm 12,8$	$68,6 \pm 12,3$	$70,9 \pm 13,8$
Taillenumfang (cm)	79 ± 9	79 ± 10	79 ± 9
Hüftumfang (cm)	93 ± 9	92 ± 9	94 ± 9
WHR	$0,85 \pm 0,07$	$0,85 \pm 0,07$	$0,84 \pm 0,08$

3.4. Indirekte Kalorimetrie

3.4.1. Energieumsatz und ppTh

Der in der 30-minütigen Messung ermittelte RNU betrug in der Placebogruppe in V1 1574 ± 271 kcal/d, in V2 1532 ± 255 kcal/d (n.s.). Der RNU der Salzgruppe lag nur minimal darüber und betrug in V1 1592 ± 257 kcal/d, in V2 1586 ± 240 kcal/d (n.s.). Es gab zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des RNU.

Um herauszufinden, ob der RNU der Proband*innen sich im üblichen Normwertbereich befand, wurde die Abweichung des kalorimetrisch gemessenen RNU am berechneten prädiktiven Wert ($RNU_{\text{präd}}$) in % bestimmt. $RNU_{\text{präd}}$ wurde nachträglich für alle Proband*innen mit Hilfe der Harris-Benedict-Formel berechnet. Der gemessene RNU war in beiden Gruppen und Messungen geringfügig kleiner als der prädiktive Wert. In der Placebogruppe betrug der ermittelte RNU in V1 $98,3 \pm 8,2$ % von $RNU_{\text{präd}}$ und in V2 $96,0 \pm 7,5$ %. In der Salzgruppe betrug er in V1 $98,0 \pm 10,7$ %

und in V2 $97,4 \pm 9,3$ %. Der ermittelte RNU wurde als normwertig angesehen, wenn die Abweichung zu $RNU_{\text{präd.}}$ im Durchschnitt weniger als 10 % betrug. Dies war in beiden Gruppen und in beiden Visiten gegeben. Eine übermäßige Unruhe der Proband*innen während der kalorimetrischen Messung konnte somit als Fehlerquelle weitgehend ausgeschlossen werden, was auf eine valide Messung hindeutet. Da es auch keine signifikanten Unterschiede innerhalb und zwischen den Gruppen gab, kann für die folgenden kalorimetrischen Messergebnisse von einer guten Vergleichbarkeit ausgegangen werden.

Bei der Betrachtung des Energieumsatzes (EU) wurde nicht die absolute, sondern die relative Änderung im Vergleich zum Basalwert dargestellt (Abbildung 6). Nach dem Verzehr der Testmahlzeit stieg der EU wie erwartet bei allen Proband*innen deutlich an und erreichte in beiden Gruppen in V1 und V2 nach 90 Minuten seine maximale Steigerung (Abbildung 6 A). Die maximale Steigerung des EU nach 90 Minuten in V1 und V2 betrug in der Placebogruppe 20 ± 7 % und 23 ± 5 %, in der Salzgruppe 22 ± 6 % und 18 ± 7 %. Danach begann der EU in beiden Gruppen wieder abzusinken, lag aber nach 240 Minuten noch deutlich über dem zu Beginn gemessenen RNU. In der Placebogruppe lag der EU zum Ende der Messung in V1 und V2 noch 9 ± 5 % und 8 ± 4 %, in der Salzgruppe 8 ± 5 % und 8 ± 4 % über dem Ausgangsniveau.

In der Placebogruppe stieg der EU in V1 zunächst langsamer an als in V2 (Abbildung 6 A). Die EU-Steigerung fiel in den ersten 3 Stunden der Messung in V1 stets geringer aus als in V2. Erst ab dem letzten Messintervall ab 210 Minuten lag die EU-Steigerung in V2 minimal unter der in V1, wo sie bis zum Ende der Messung verblieb. In der Salzgruppe dagegen fiel die Steigerung des EU nach 2-wöchiger Salzphase in V2 geringer aus als in V1. Während der EU in der Salzgruppe in den ersten 60 Minuten in beiden Visiten ähnlich stark anstieg, stagnierte er in V2 nach 60 Minuten und steig nur in V1 weiter an. Während der gesamten 4-stündigen Messung war die EU-Steigerung in der Salzgruppe in V1 geringer als in V2.

Durch die Berechnung der Differenz der relativen Änderung des EU im Vergleich zum Basalwert (ΔEU) zwischen beiden Visiten ($V2 - V1$) konnten die Gruppenunterschiede noch deutlicher dargestellt werden. ΔEU über den gesamten Messverlauf ist in Abbildung 6 B dargestellt. ΔEU war in der Placebogruppe über die ersten 3 Stunden der Messung positiv, da der EU in V1 zunächst schwächer anstieg als in V2. Erst in der letzten Stunde der Messung wurde ΔEU in der Placebogruppe negativ. In der Salzgruppe fiel die Steigerung des EU in V1 während der gesamten Messung stärker aus als in V2. Somit war ΔEU über den gesamten Messverlauf negativ. Mittels mehrfaktorieller Varianzanalyse (two-way ANOVA) konnten insgesamt etwa 53 % der Varianz von ΔEU erklärt werden. Ein Großteil der erklärbaren Varianz (43,08 %) konnten hierbei auf das Intrasubjektlevel, also auf die unterschiedlichen ΔEU -Niveaus der Proband*innen zurückgeführt werden. Der Einfluss der durchgeführten Intervention (Salz bzw. Placebo) auf die Gesamtvariation lag bei 5,8 % und war damit statistisch signifikant ($p=0,0342$).

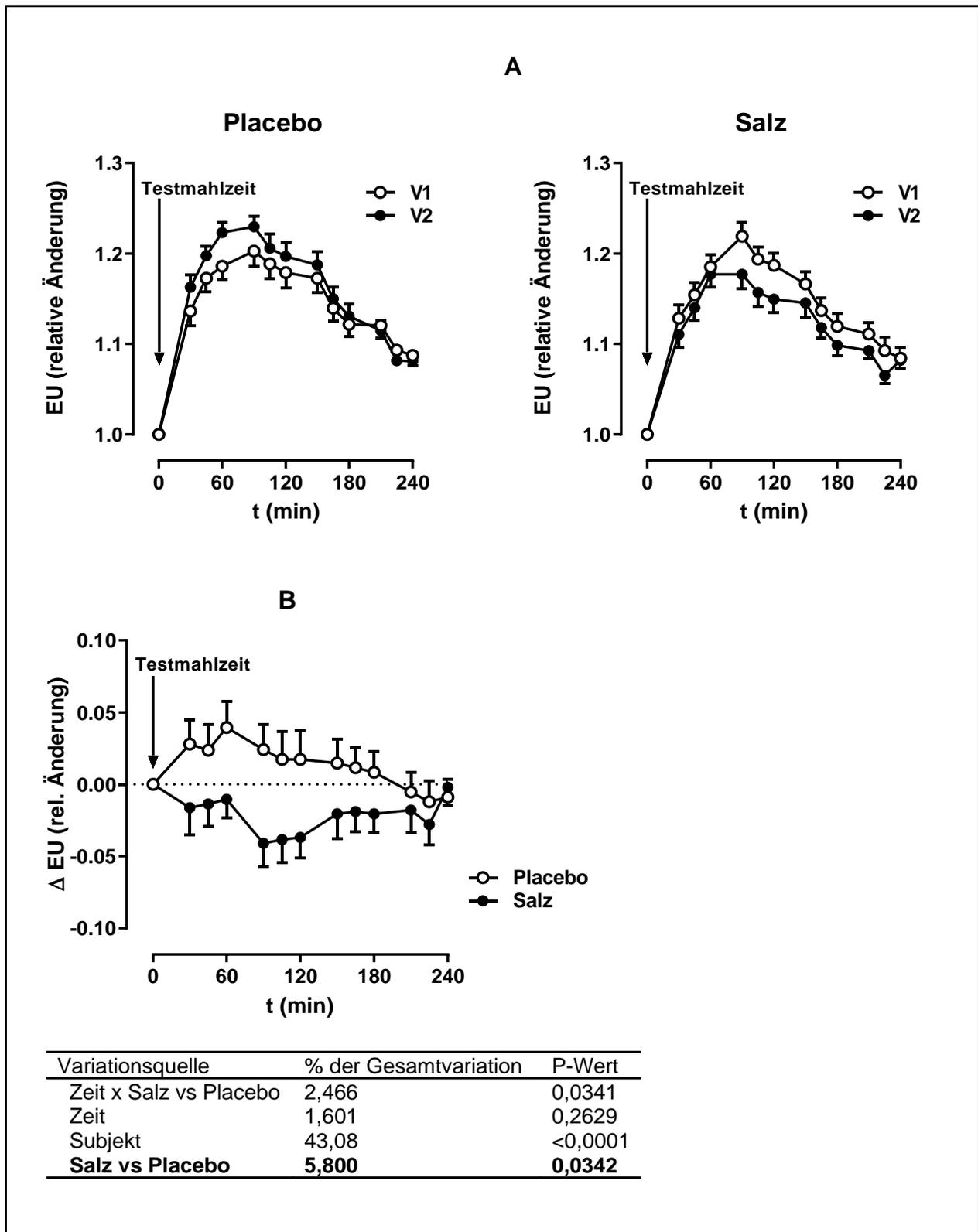


Abbildung 6: Relative Änderung des Energieumsatzes (EU) (A) über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit (t=0 min) in der Placebo- (n=19) und Salzgruppe (n=19) in Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). Differenz (V2 – V1) der relativen Änderung des Energieumsatzes (Δ EU) (B) über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit (t=0 min) in der Placebo- (n=19) und Salzgruppe (n=19). Daten (A) sind als Mittelwerte \pm SEM dargestellt. Daten (B) sind als Mittelwerte \pm SEM dargestellt. Mehrfaktorielle Varianzanalyse (B) (two-way ANOVA)

Die absolute ppTh betrug 240 Minuten nach Verzehr der Testmahlzeit in der Placebogruppe in V1 160 ± 52 kJ und in V2 172 ± 38 kJ. In der Salzgruppe betrug sie in V1 161 ± 44 kJ und in V2 138 ± 46 kJ.

Die in der Testmahlzeit aufgenommene Energiemenge betrug 1845 kJ. Bei der weiteren Betrachtung der ppTh wurde ihr Anteil an der in der Testmahlzeit aufgenommenen Energiemenge in % dargestellt (Abbildung 7 A). Insgesamt unterlag die ppTh einer hohen interindividuellen Varianz und variierte in den Messungen aller Proband*innen zwischen 1,2 % und 14,5 % der aufgenommenen Energiemenge. In der Placebogruppe stieg die ppTh minimal von $8,7 \pm 2,8$ % in V1 auf $9,3 \pm 2,1$ % in V2 an ($p=0,2886$). Im Gegensatz dazu sank die ppTh in der Salzgruppe von $8,7 \pm 2,4$ % in V1 auf $7,4 \pm 2,5$ % in V2 ab. Dies stellte eine signifikante Verringerung der ppTh unter Salz ($p=0,048$) und somit eine Bestätigung der Primärhypothese dar.

Durch die Berechnung der Differenz der ppTh ($\Delta ppTh$) in % zwischen beiden Visiten ($V2 - V1$) konnten die Gruppenunterschiede auch hier verdeutlicht werden (Abbildung 7 B). In der Placebogruppe war die ppTh von V1 zu V1 gering angestiegen, $\Delta ppTh$ lag somit bei $0,6 \pm 2,6$ %. In der Salzgruppe, in der eine signifikante Verringerung der ppTh stattgefunden hatte, lag $\Delta ppTh$ bei $-1,3 \pm 2,6$ %. Der Unterscheid der $\Delta ppTh$ zwischen Placebo- und Salzgruppe war somit statistisch signifikant ($p=0,0227$). Die farbliche Kennzeichnung von Männern (rot) und Frauen (blau) (Abbildung 7 B) verdeutlicht, dass in vorliegender Studie keine signifikanten geschlechtsspezifischen Unterschiede in der primären Zielvariable festgestellt wurden.

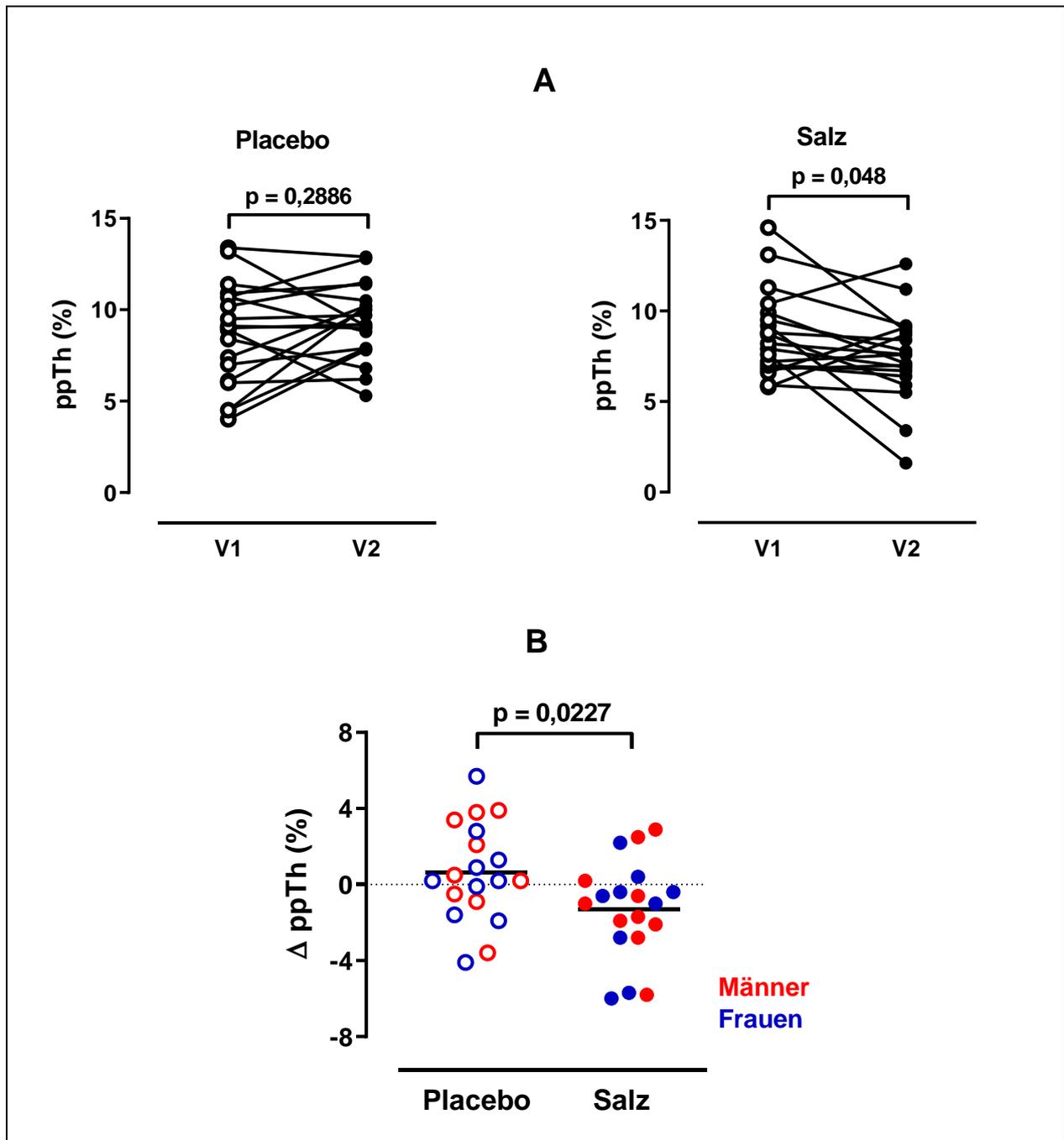


Abbildung 7: Postprandiale Thermogenese (ppTh) in % (A) über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit in der Placebo- (n=19) und Salzgruppe (n=19). Differenz (V2 – V1) der postprandialen Thermogenese ($\Delta ppTh$) in % (B) über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit in der Placebo- (n=19) und Salzgruppe (n=19). Daten (A) sind als Einzelwerte dargestellt. V1 vs. V2 (Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben). Daten (B) sind als Einzelwerte mit Mittelwert dargestellt, Männer (rot) und Frauen (blau), Placebo vs. Salz (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben)

3.4.2. Respiratory Exchange Rate und Substratverwertung

Die Ruhe-Nüchtern-RER wurde in einer 30-minütigen Messung vor Verzehr der Testmahlzeit ermittelt (Abbildung 8 A). Sie variierte bei allen Proband*innen und Messungen zwischen 0,72 und 0,99. Im Durchschnitt betrug sie in der Placebogruppe in V1 $0,78 \pm 0,04$ und in V2 $0,79 \pm 0,04$ (n.s.). In der Salzgruppe lag sie in V1 bei $0,8 \pm 0,06$ und in V2 bei $0,82 \pm 0,05$ (n.s.). Sie lag somit

in beiden Gruppen im erwartbaren Bereich für gesunde, nüchterne Proband*innen. Nach Verzehr der Testmahlzeit fiel die RER in beiden Gruppen zu Beginn der Messung wie erwartet zunächst deutlich ab und erreichte nach 30 Minuten bei allen Proband*innen ihr Minimum. In der Placebogruppe sank die RER nach 30 Minuten in V1 und V2 auf jeweils $0,77 \pm 0,05$ ab. In der Salzgruppe sank sie zum gleichen Zeitpunkt in V1 auf $0,78 \pm 0,06$, in V2 auf $0,80 \pm 0,04$ ab.

Wie erwartet stieg ab Minute 30 in beiden Gruppen und Messungen die RER deutlich an (Abbildung 8 A). Die RER erreichte in beiden Gruppen gegen Mitte der Messung ihr Maximum und fiel anschließend wieder ab. In beiden Gruppen war die RER über den Großteil der Messung in V2 höher als in V1, was einen höheren Anteil an Kohlenhydratoxidation in V2 indiziert.

In Abbildung 8 B ist die Differenz der RER (ΔRER) zwischen beiden Visiten ($V2 - V1$) dargestellt. Einzig in der Placebogruppe nach 30 Minuten und in der Salzgruppe nach 90 Minuten war die RER in V1 minimal höher als in V2 und ΔRER somit negativ. Mittels mehrfaktorieller Varianzanalyse (two-way ANOVA) konnten insgesamt etwa 83 % der Varianz von ΔRER erklärt werden. Ein Großteil der erklärbaren Varianz (81,74 %) konnten hierbei auf das Intrasubjektlevel, also auf die unterschiedlichen ΔRER -Niveaus der Proband*innen zurückgeführt werden. Der Einfluss der durchgeführten Intervention (Salz bzw. Placebo) auf die Gesamtvariation von ΔRER war mit etwa 0,09 % sehr gering und damit statistisch nicht signifikant ($p=0,8459$).

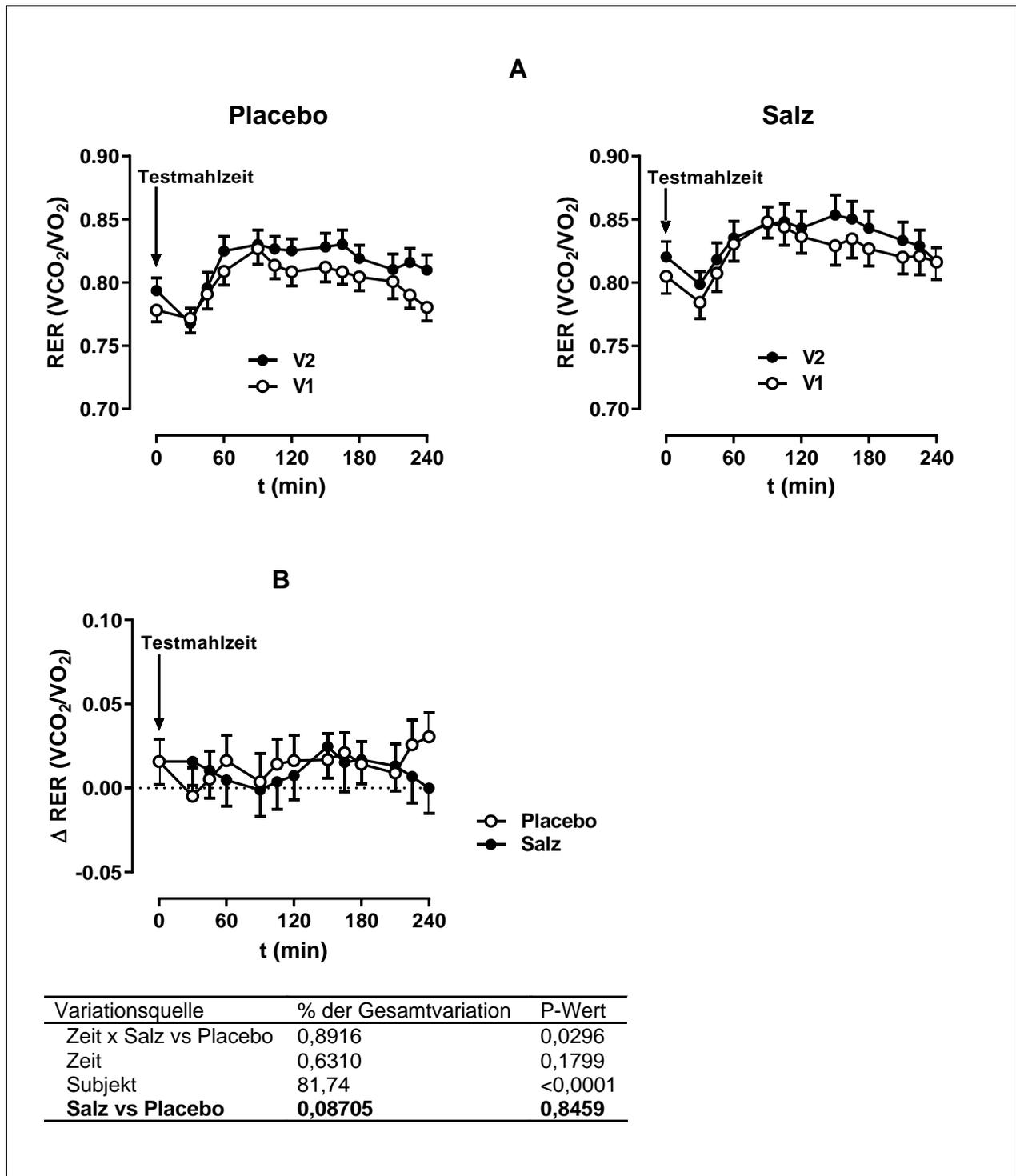


Abbildung 8: Respiratory Exchange Rate (RER) in VCO_2/VO_2 (A) über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit ($t=0$ min) in der Placebo- ($n=19$) und Salzgruppe ($n=19$) in Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). Differenz (V2 – V1) der Respiratory Exchange Rate (ΔRER) (B) über 4 Stunden nach Verzehr der Testmahlzeit ($t=0$ min) in der Placebo- ($n=19$) und Salzgruppe ($n=19$). Daten (A) sind als Mittelwerte \pm SEM dargestellt. Daten (B) sind als Mittelwerte \pm SEM dargestellt, Mehrfaktorielle Varianzanalyse (B) (two-way ANOVA)

3.5. Bioelektrische Impedanzanalyse

Die mittels BIA gemessene Körperzusammensetzung und das Körpergewicht sind in Tabelle 5 für die Placebogruppe und in Tabelle 6 für die Salzgruppe dargestellt. In beiden Gruppen konnte keine relevante Änderung zwischen den Visiten und somit kein signifikanter Salzeffekt auf die Körperzusammensetzung festgestellt werden. Insbesondere konnten Befunde der explorativen Vorstudie eines erhöhten Körpergewichts und einer Zunahme des Körperwassers nach Salz nicht reproduziert werden. Ebenso gab es für keinen der gemessenen Parameter der Körperzusammensetzung einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen.

Tabelle 5: Körpergewicht und -zusammensetzung in der Placebogruppe (n=19) in Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). FM: Fettmasse, FFM: Fettfreie Masse, BCM: Körperzellmasse, ECW: Extrazelluläres Wasser, TBW: Gesamtkörperwasser. Für jedes der gemessenen Körperkompartimente ist der Normwert dargestellt. Daten sind als Mittelwerte \pm SD aufgeführt. V1 vs. V2 (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben)

Placebo	V1	V2	p (V1 vs. V2)
Gewicht (kg)	68 \pm 12	68 \pm 13	n.s.
FM (%)	25 \pm 5	25 \pm 5	n.s.
FFM (%)	75 \pm 5	75 \pm 5	n.s.
BCM (% FFM)	53 \pm 3	53 \pm 3	n.s.
ECW (l)	44 \pm 3	44 \pm 3	n.s.
TBW (%)	53 \pm 5	53 \pm 5	n.s.

Tabelle 6: Körpergewicht und -zusammensetzung in der Salzgruppe (n=19) in Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). FM: Fettmasse, FFM: Fettfreie Masse, BCM: Körperzellmasse, ECW: Extrazelluläres Wasser, TBW: Gesamtkörperwasser. Für jedes der gemessenen Körperkompartimente ist der Normwert dargestellt. Daten als Mittelwerte \pm SD. V1 vs. V2 (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben)

Salz	V1	V2	p (V1 vs. V2)
Gewicht (kg)	71 \pm 14	71 \pm 14	n.s.
FM (%)	23 \pm 6	23 \pm 5	n.s.
FFM (%)	77 \pm 6	77 \pm 5	n.s.
BCM (% FFM)	54 \pm 3	54 \pm 3	n.s.
ECW (l)	43 \pm 3	43 \pm 3	n.s.
TBW (%)	55 \pm 5	55 \pm 4	n.s.

3.6. Ernährungsanalyse

Die Ernährungsanalyse wurde mittels Ernährungs-Schätzprotokoll für alle Proband*innen über jeweils drei Tage vor V1 und V2 durchgeführt. Mit Hilfe der Auswertungssoftware konnten für jeden Protokolltag die aufgenommene Energiemenge sowie die Nährstoffzusammensetzung berechnet werden. Anschließend wurde für alle Proband*innen je Visite der Mittelwert der jeweiligen drei Tageswerte gebildet und mit den Empfehlungen der DGE verglichen. Die Empfehlungen für die täglich zuzuführende Energie- und Wassermenge sowie die Nährstoffzusammensetzung berechnete die Software für jeden Proband*innen individuell anhand von Alter und Geschlecht.

3.6.1. Natrium und Kochsalz

Die tägliche Natriumeinnahme über die Ernährung blieb in beiden Gruppen über die dreitägigen Protokollphasen weitgehend konstant (Abbildung 9). Sie änderte sich auch von prä- zu postinterventionell nicht signifikant. Die durchschnittliche tägliche Natriumeinnahme über drei Tage stieg in der Placebogruppe von $2,07 \pm 0,89$ g vor V1 auf $2,39 \pm 0,98$ g vor V2 (n.s.). In der Salzgruppe blieb sie nahezu unverändert bei $2,41 \pm 0,89$ g vor V1 und $2,41 \pm 0,87$ g vor V2 (n.s.). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen hinsichtlich der Natriumeinnahme über die Ernährung.

Um die totale Natriumeinnahme der Salzgruppe vor V2 inklusive der eingenommenen Salzkapseln zu berechnen, wurde der Natriumgehalt der Kapseln zur Natriummenge, die bereits über die Nahrung aufgenommen wurde, addiert. Die in der Salzgruppe täglich in Kapseln zugeführten 6 g Kochsalz enthielten ca. 2,36 g Natrium. Somit betrug die totale aufgenommene tägliche Natriummenge vor V2 im Durchschnitt $4,77 \pm 0,87$ g. Dadurch ergab sich in der Salzgruppe eine signifikante Erhöhung der Natriumzufuhr von V1 zu V2 ($p < 0,0001$).

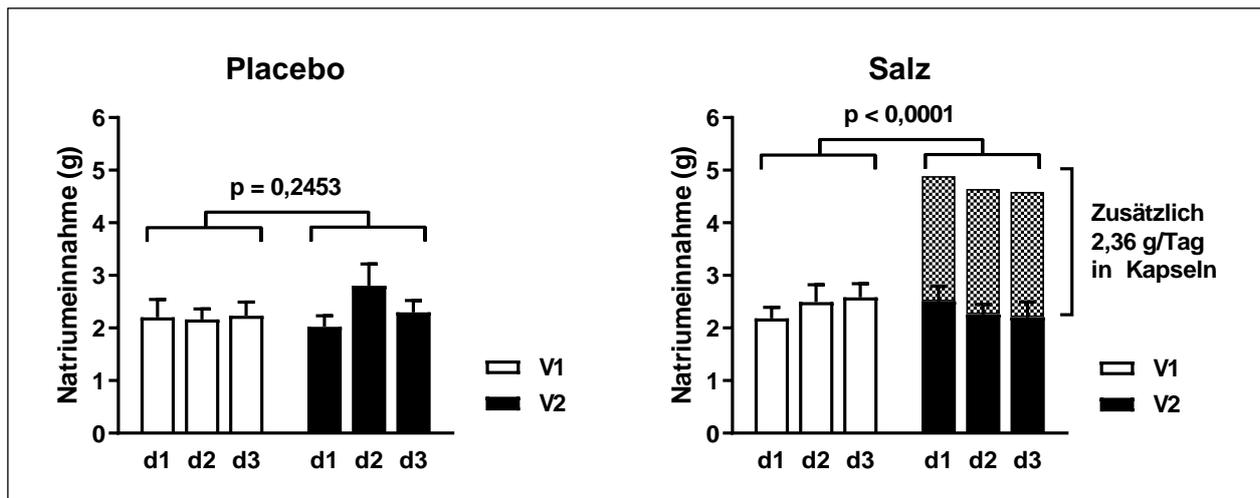


Abbildung 9: Mittlere tägliche Natriumeinnahme in der Placebo- (n=19) und Salzgruppe (n=19) über jeweils drei Protokolltage (d1, d2, d3) vor Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). In der Salzgruppe ist vor V2 die totale Natriumzufuhr inklusive der in den Salzkapseln enthaltenen Natriums dargestellt. Daten sind als Mittelwerte + SEM dargestellt, V1 vs. V2 (Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben)

Für die näherungsweise Berechnung der täglich aufgenommenen Kochsalzmenge wurde angenommen, dass 100 % des mit der Nahrung zugeführten Natriums über Kochsalz aufgenommen wird. Die Placebogruppe nahm somit vor V1 täglich über die Nahrung $5,26 \pm 2,26$ g und vor V2 $6,06 \pm 2,49$ g Kochsalz zu sich (n.s.). In der Salzgruppe blieb die Salzzufuhr über die Nahrung nahezu unverändert bei $6,13 \pm 2,26$ g vor V1 und $6,12 \pm 2,21$ g vor V2 (n.s.). Durch die täglich über die Kapseln eingenommenen 6 g Kochsalz erhöhte sich die totale Aufnahme in V2 auf $12,12 \pm 2,21$ g. Dies bedeutete in der Salzgruppe eine signifikante Erhöhung der Salzzufuhr von V1 zu V2 ($p < 0,0001$).

Die Unterschiede in der Salzzufuhr über die Nahrung zwischen den Gruppen waren nicht signifikant. Die Einnahme der Salzkapseln hatte in der Salzgruppe keinen Einfluss auf die Salzzufuhr über die Nahrung in den Tagen vor V1 zu V2. Zudem gab es keine relevante Salzbedingte Veränderung der Trinkmenge. Die Wasserzufuhr war in der Salzgruppe vor beiden Visiten nur minimal höher als in der Placebogruppe (s.u.). Dadurch war eine gute Vergleichbarkeit der Gruppen bezüglich ihres Kochsalz-Grundkonsums und der Trinkmenge sichergestellt.

Anschließend wurde die täglich zugeführte Menge Kochsalz mit den Empfehlungen der DGE zum täglichen Salzkonsum verglichen. Der Salzkonsum über die Ernährung lag in beiden Gruppen vor beiden Visiten im Bereich der maximal empfohlenen Tagesmenge von 6 g. Lediglich durch das über die Kapseln zugeführte Salz vor V2 überschritt die Salzgruppe die empfohlene Tageshöchstmenge auf das Doppelte.

3.6.2. Energiegehalt, Makro- und Mikronährstoffe

Die Ernährungsanalyse der Placebogruppe ist in Tabelle 7 dargestellt. Weder der tägliche Energiegehalt der Nahrung noch die prozentuale Makronährstoffzusammensetzung war von V1 zu V2 wesentlich verändert. Die Placebogruppe nahm vor der V1 geringfügig mehr Wasser zu sich, wobei der Unterschied nicht signifikant war.

Tabelle 7: Ernährungsanalyse der Makronährstoffe in der Placebogruppe (n=19) vor Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). Es ist die mittlere tägliche Aufnahme der 3-tägigen Protokolldauer vor V1 und V2 sowie die Empfehlung der DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung) dargestellt. Die Daten sind als Mittelwerte \pm SD angegeben, V1 vs. V2 (Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben)

Placebo	V1	V2	p (V1 vs. V2)	DGE-Empfehlung
Energie (kcal)	1940 \pm 517	2026 \pm 536	n.s.	2152 \pm 242
Fett (%)	35 \pm 8	35 \pm 7	n.s.	<30
Kohlenhydrate (%)	44 \pm 7	42 \pm 7	n.s.	>50
Eiweiß (%)	16 \pm 4	16 \pm 4	n.s.	10,3
Wasser (l)	2,70 \pm 0,87	2,61 \pm 0,77	n.s.	2,6 \pm 0,1

Auch in der Salzgruppe (Tabelle 8) gab es keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich des Energiegehalts und der Makronährstoffzusammensetzung der täglichen Ernährung zwischen den Visiten. Die tägliche Wasserzufuhr erhöhte sich um von V1 zu V2 um 0,14 l, was etwa 5 % entspricht. Da der Unterschied nicht signifikant war, kann nicht von einem relevanten Salzeffekt auf die Trinkmenge gesprochen werden.

Tabelle 8 Ernährungsanalyse der Makronährstoffe in der Salzgruppe (n=19) vor Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). Es ist die mittlere tägliche Aufnahme der 3-tägigen Protokolldauer vor V1 und V2 sowie die Empfehlung der DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung) dargestellt. Die Daten sind als Mittelwerte \pm SD angegeben, V1 vs. V2 (Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben)

Salz	V1	V2	p (V1 vs. V2)	DGE-Empfehlung
Energie (kcal)	2201 \pm 481	2251 \pm 484	n.s.	2190 \pm 275
Fett (%)	36 \pm 5	36 \pm 4	n.s.	<30
Kohlenhydrate (%)	43 \pm 7	42 \pm 5	n.s.	>50
Eiweiß (%)	16 \pm 3	17 \pm 4	n.s.	10,5
Wasser (l)	2,78 \pm 0,90	2,92 \pm 0,92	n.s.	2,6 \pm 0,1

Um herauszufinden, ob sich die Proband*innen bedarfsgerecht ernährten, wurden die analysierten Ernährungsparameter für Makro- und Mikronährstoffe mit der jeweiligen DGE-

Empfehlung verglichen (Tabellen 7 und 8). Vor V1 und V2 nahm die Placebogruppe täglich $90 \pm 20 \%$ und $94 \pm 19 \%$, die Salzgruppe $100 \pm 17 \%$ und $102 \pm 17 \%$ der von der DGE empfohlenen Energiemenge zu sich. Die Unterschiede innerhalb und zwischen den Gruppen waren nicht signifikant. Die Wasserzufuhr beider Gruppen lag vor beiden Visiten geringfügig über der DGE-Empfehlung, wobei die Unterschiede zwischen den Visiten und Gruppen nicht signifikant waren.

Die DGE empfiehlt im Rahmen einer ausgewogenen Ernährung einen Fettanteil von $< 30 \%$, einen Kohlenhydratanteil von $> 50 \%$ und eine tägliche Proteinzufuhr von $0,8 \text{ g pro kg Körpergewicht}$ (123). Dies ergibt für die vorliegende Studienpopulation einen Proteinanteil von $10,3 \%$ in der Placebogruppe und von $10,5 \%$ in der Salzgruppe. Bei der Auswertung der Makronährstoffzusammensetzung fällt auf, dass der Fettgehalt der Ernährung stets über den Empfehlungen der DGE lag. Dies galt gleichermaßen für beide Gruppen vor beiden Visiten. Ebenso verhielt es sich mit dem Proteinanteil, der in beiden Gruppen über der Empfehlung lag. Der Kohlenhydratgehalt der Ernährung beider Gruppen lag unter der Empfehlung der DGE. Die aufgenommenen Mikronährstoffe (Vitamine, Mineralstoffe, Omega-Fettsäuren) lagen in beiden Gruppen weitgehend im Referenzbereich der Empfehlungen der DGE. Die Unterschiede innerhalb und zwischen den Gruppen waren für keinen der Nährstoffparameter signifikant. Somit konnte von einer guten Übereinstimmung der Gruppen hinsichtlich ihres Essverhaltens und somit von einer guten Vergleichbarkeit ausgegangen werden.

3.7. Urinanalyse

Für die Urinanalyse sammelten die Proband*innen vor jeder Visite ihren gesamten Urin über drei Tage in 24-Stunden-Fractionen. Daraus wurde für jeden Messparameter pro Visite ein Mittelwert gebildet. Die Urinalysen der Placebo- und Salzgruppe sind in Tabelle 9 und 10 dargestellt.

Zunächst wurde untersucht, ob die erhöhte Salzzufuhr ein höheres Urinvolumen nach sich zieht. Während die tägliche Urinausscheidung in der Placebogruppe konstant blieb (n.s., Tabelle 9), erhöhte sie sich in der Salzgruppe um ca. 15% , was einen signifikanten Anstieg von V1 zu V2 darstellte ($p=0,012$, Tabelle 10). Wie erwartet erhöhte sich in der Salzgruppe auch die Natriumkonzentration im Urin signifikant ($p=0,007$, Tabelle 10). Die Auswertung der Harnosmolarität und der Konzentration von Harnstoff – neben Wasser der Hauptbestandteil im menschlichen Urin – ebenso wie die Kreatinin-Konzentration keine signifikanten Unterschiede innerhalb und zwischen den Gruppen.

Die tägliche Natriumausscheidung (UNaV) in g konnte durch Kenntnis der täglichen Sammelurinmenge und der Natriumkonzentration im Urin berechnet werden. Da Salz im Körper überwiegend renal ausgeschieden wird, diente die Bestimmung der UNaV als wichtige Validierung

der über die Ernährungsprotokolle ermittelten Salzzufuhr. Außerdem wurde über die Messung der UNaV eine teilweise Kontrolle der Compliance der Salzgruppe hinsichtlich der Kapseleinnahme ermöglicht. Die signifikante Erhöhung der UNaV vor V2 in der Placebogruppe (Tabelle 9) überrascht zunächst, lässt sich aber teilweise durch die in V2 um $0,32 \pm 0,97$ g höhere Natriumzufuhr über die Ernährung erklären (siehe 3.6.1.). In der Salzgruppe konnte wie erwartet von V1 zu V2 eine deutliche Erhöhung der UNaV festgestellt werden (Tabelle 10), interessanterweise aber nicht bei allen Proband*innen. Zwei männliche Probanden der Salzgruppe hatten vor der V2 eine geringere UNaV als vor der V1, obwohl ihre tägliche Natriumzufuhr zur V2 um 2,63 g bzw. 1,51 g größer war. Es handelte sich um die beiden Probanden der Salzgruppe, die initial vor V1 die höchste UNaV hatten.

Tabelle 9: Urinanalyse in der Placebogruppe (n=19) vor Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). UNaV: Tägliche Natriumausscheidung. Es sind die mittleren Tageswerte der 3-tägigen Sammelphase vor V1 und V2 dargestellt. Die Daten sind als Mittelwerte \pm SD angegeben, V1 vs. V2 (Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben)

Placebo	V1	V2	p (V1 vs. V2)
Urinvolumen (l)	2,22 \pm 0,77	2,15 \pm 0,76	n.s.
Harnosmolarität (mOsmol/kg)	356 \pm 118	450 \pm 169	n.s.
Harnstoff (g/dl)	1,21 \pm 0,56	1,16 \pm 0,48	n.s.
Kreatinin (mg/dl)	77 \pm 26	79 \pm 31	n.s.
Natrium (mmol/l)	75 \pm 29	91 \pm 33	n.s.
UNaV (g)	3,48 \pm 1,06	4,19 \pm 1,34	0,037

Tabelle 10: Urinanalyse in der Salzgruppe (n=19) vor Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). UNaV: Tägliche Natriumausscheidung. Es sind die mittleren Tageswerte der 3-tägigen Sammelphase vor V1 und V2 dargestellt. Die Daten sind als Mittelwerte \pm SD angegeben, V1 vs. V2 (Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben)

Salz	V1	V2	p (V1 vs. V2)
Urinvolumen (l)	1,77 \pm 0,75	2,04 \pm 0,71	0,012
Harnosmolarität (mOsmol/kg)	544 \pm 227	583 \pm 202	n.s.
Harnstoff (g/dl)	1,46 \pm 0,59	1,25 \pm 0,47	n.s.
Kreatinin (mg/dl)	112 \pm 66	85 \pm 29	n.s.
Natrium (mmol/l)	91 \pm 39	136 \pm 54	0,007
UNaV (g)	3,17 \pm 1,11	5,66 \pm 1,20	<0,0001

Durch die Berechnung der Differenz (V2 – V1) der täglichen Natriumausscheidung (Δ UNaV) wurde anschließend untersucht, ob sich mithilfe der Urinanalyse in der Salzgruppe das zusätzliche über die Salzkapseln aufgenommene Natrium herausrechnen lässt (Abbildung 10). Beide

Gruppen schieden vor V2 mehr Natrium aus als vor V1. In der Placebogruppe betrug ΔUNaV $0,71 \pm 1,43$ g. Diese Differenz ist teilweise auf die höhere Natriumzufuhr in der Placebogruppe vor V2 zurückzuführen (siehe 3.6.1.). In der Salzgruppe betrug ΔUNaV $2,49 \pm 1,35$ g, es wurde somit täglich durchschnittlich vor V2 ca. 2,5 g mehr Natrium aus als vor V1 ausgeschieden. Die vor V2 zusätzlich über Salzkapseln täglich aufgenommenen 6 g Kochsalz enthielten 2,36 g Natrium. Bei einer sonst von V1 zu V2 unveränderten Natriumzufuhr über die Ernährung (siehe 3.6.1.) ist die berechnete ΔUNaV somit um ca. 5 % höher als die rechnerisch zusätzlich aufgenommene Menge Natrium in Kapseln.

Insgesamt ergab sich bei der Berechnung von ΔUNaV ein signifikanter Unterschied zwischen Placebo- und Salzgruppe ($p=0,0004$). Die Gruppenunterschiede lagen im erwarteten Bereich. Es kann somit von einer guten Compliance der Studienteilnehmer hinsichtlich der Ernährungsprotokollierung und der Kapseleinnahme ausgegangen werden, so dass eine aussagekräftige Analyse der Fragestellung möglich ist.

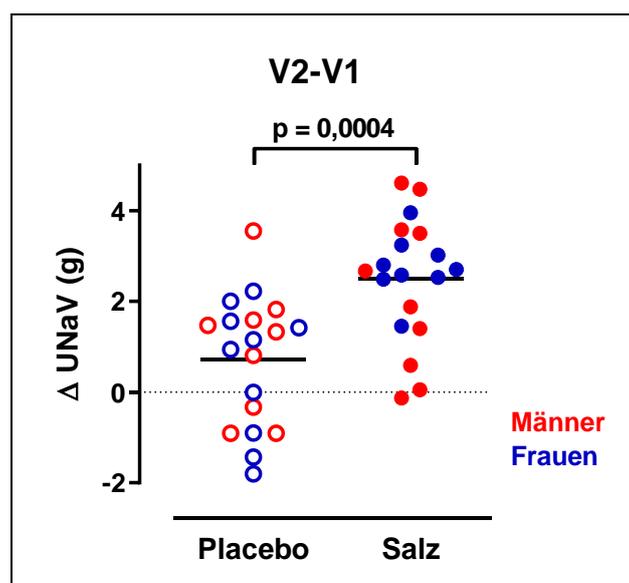


Abbildung 10 Differenz ($V2 - V1$) der täglichen Natriumausscheidung (ΔUNaV) in g in der Placebo- ($n=19$) und Salzgruppe ($n=19$). Daten sind als Einzelwerte mit Mittelwert dargestellt, Männer (rot) und Frauen (blau), Placebo vs. Salz (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben)

3.8. Blutdruck und Gefäßsteifigkeit

Blutdruck, Herzfrequenz und Gefäßsteifigkeit wurden kontinuierlich alle 15 Minuten im Liegen über die gesamte Dauer der Kalorimetrie gemessen. In Tabelle 11 sind die kardiovaskulären Parameter der Placebogruppe dargestellt. Systolischer (RR_{sys}) und der diastolischer (RR_{dia}) Blutdruck lagen im normotensiven Bereich und zeigten ebenso wie der arterielle Mitteldruck (MAD) von V1 zu V2

keine signifikante Veränderung. Ebenso gab es keine signifikante Veränderung der Herzfrequenz (HF), der PWV und des peripheren Widerstandes (TPR).

Tabelle 11: Kardiovaskuläre Parameter in der Placebogruppe (n=19) in Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). RR_{sys}: Systolischer Blutdruck, RR_{dia}: diastolischer Blutdruck, MAD: Mittlerer arterieller Blutdruck, HF: Herzfrequenz, PWV: Pulswellengeschwindigkeit, TPR: Totaler peripherer Widerstand. Die Daten sind als Mittelwerte \pm SD angegeben, V1 vs. V2 (Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben)

Placebo	V1	V2	p (V1 vs. V2)
RR _{sys} (mmHg)	115 \pm 7	116 \pm 8	n.s.
RR _{dia} (mmHg)	71 \pm 8	71 \pm 7	n.s.
MAD (mmHg)	91 \pm 7	92 \pm 7	n.s.
HF (1/min)	64 \pm 10	64 \pm 9	n.s.
PWV (m/s)	5,2 \pm 0,5	5,2 \pm 0,5	n.s.
TPR (Pa * s/m ³)	1,14 \pm 0,14	1,11 \pm 0,13	n.s.

Die kardiovaskulären Messparameter der Salzgruppe sind in Tabelle 12 dargestellt. Auch hier lag der Blutdruck in beiden Visiten im normotensiven Bereich. Es konnte kein signifikanter Salzeffekt auf die Blutdruckparameter RR_{sys}, RR_{dia} und MAD zwischen V1 und V2 festgestellt werden. Die erhöhte Salzzufuhr hatte ebenso auf die Herzfrequenz, PWV und den peripheren Widerstand keinen signifikanten Effekt. Insgesamt lagen die kardiovaskulären Messparameter für Blutdruck, PWV und Herzfrequenz in der Salzgruppe in beiden Visiten gering über der Placebogruppe, waren aber im Vergleich zur Placebogruppe nicht signifikant erhöht. Ebenso gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich des peripheren Widerstands.

Tabelle 12: Kardiovaskuläre Parameter in der Salzgruppe (n=16 für RR_{sys}, RR_{dia}, MAD, HF; n=12 für PWV, TPR) in Visite 1 (V1) und Visite 2 (V2). RR_{sys}: Systolischer Blutdruck, RR_{dia}: diastolischer Blutdruck, MAD: Mittlerer arterieller Blutdruck, HF: Herzfrequenz, PWV: Pulswellengeschwindigkeit, TPR: Totaler peripherer Widerstand. Die Daten sind als Mittelwerte \pm SD angegeben, V1 vs. V2 (Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben)

Salz	V1	V2	p (V1 vs. V2)
RR _{sys} (mmHg)	119 \pm 7	118 \pm 8	n.s.
RR _{dia} (mmHg)	74 \pm 6	74 \pm 6	n.s.
MAD (mmHg)	93 \pm 5	94 \pm 7	n.s.
HF (1/min)	67 \pm 9	66 \pm 11	n.s.
PWV (m/s)	5,5 \pm 0,6	5,5 \pm 0,7	n.s.
TPR (Pa * s/m ³)	1,12 \pm 0,11	1,12 \pm 0,10	n.s.

Aufgrund technischer Probleme konnten die Blutdruckdaten nur von 16 der 19 Proband*innen der Placebogruppe ausgewertet werden. Unter Berücksichtigung der Differenz des systolischen (ΔRR_{sys}) und des diastolischen (ΔRR_{dia}) Blutdrucks zwischen den Visiten (V2 – V1) ist in Abbildung 11 dargestellt, wie viele Proband*innen jeder Gruppe einen Blutdruckanstieg nach der Interventionsphase hatten. Überraschenderweise reagierten 11 Proband*innen (58 %) der Placebogruppe und nur 4 Proband*innen (25 %) der Salzgruppe in V2 mit einem systolischen Blutdruckanstieg. Ein diastolischer Blutdruckanstieg wurde bei 7 Proband*innen (37 %) der Placebogruppe und 7 Proband*innen (44 %) der Salzgruppe gemessen. Die Unterschiede zwischen den Gruppen in ΔRR_{sys} und ΔRR_{dia} waren nicht signifikant.

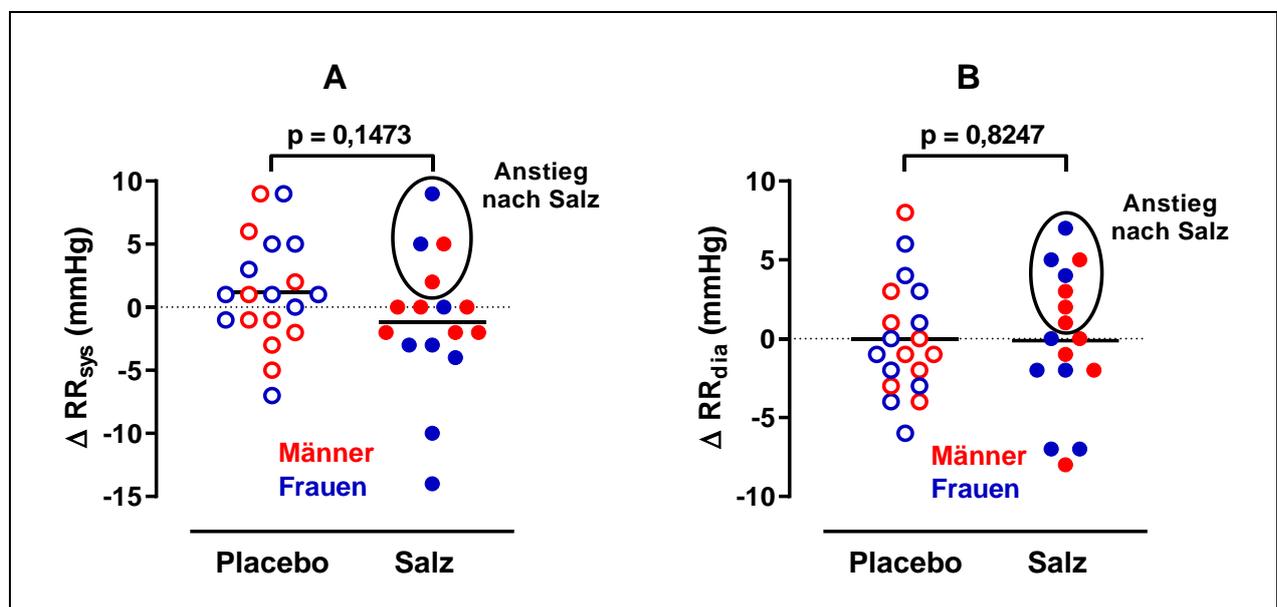


Abbildung 11: Differenz (V2 – V1) des systolischen Blutdrucks (ΔRR_{sys}) (A) und des diastolischen Blutdrucks (ΔRR_{dia}) (B) in der Placebo- (n=19) und Salzgruppe (n=16). Proband*innen, bei denen ein Blutdruckanstieg nach Salzintervention stattfand, sind eingekreist. Daten sind als Einzelwerte mit Mittelwert dargestellt, Männer (rot) und Frauen (blau), Placebo vs. Salz (Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben).

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss einer erhöhten Salzzufuhr auf den Energiestoffwechsel und auf kardiovaskuläre Parameter gesunder Männer und Frauen untersucht. Es sollte geprüft werden, ob die Assoziation zwischen Salzkonsum, Übergewicht und kardiovaskulärer Mortalität durch eine salzbedingte Veränderung des systemischen Energiestoffwechsels mit erklärbar ist. Hierfür wurde die ppTh innerhalb von 4 Stunden nach einer proteinreichen Testmahlzeit vor und nach einer 14-tägigen Erhöhung der Salzzufuhr um 6 g pro Tag zusätzlich zur normalen Ernährung vs. Placebo gemessen. Als kardiovaskuläre Parameter wurden Blutdruck und PWV vor und nach der 14-tägigen Interventionsphase gemessen. Zusätzlich wurden vor und nach der Interventionsphase die Körperzusammensetzung gemessen und Ernährungs- sowie Urinalysen durchgeführt. Die erzielten Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1. Die ppTh war in der Salzgruppe nach 14-tägiger Erhöhung der Salzzufuhr um 6 g pro Tag im Vergleich zum Ausgangswert sowie im Vergleich zur Placebogruppe signifikant verringert. Es konnte hierbei kein signifikanter Salzeffekt auf den RNU und die RER festgestellt werden.
2. Es konnte kein signifikanter Salzeffekt auf den systolischen und diastolischen Blutdruck sowie die PWV festgestellt werden.
4. Die Proband*innen ernährten sich während der Studie weitgehend bedarfsgerecht. Die Salzzufuhr über die Nahrung war in beiden Gruppen identisch. Das zusätzliche Salz in der Salzgruppe führte im Verlauf der Studie zu keiner signifikanten Veränderung der aufgenommenen Energie- oder Trinkmenge.
3. Die Körperzusammensetzung war in beiden Gruppen nach 14-tägiger Interventionsphase unverändert. Insbesondere gab es keinen Salzeffekt auf den Wasser- und Fettgehalt im Körper. Das Urinvolumen war in der Salzgruppe nach der 14-tägigen Salzintervention erhöht.

Im Folgenden werden die dargestellten Ergebnisse ausführlicher erörtert und in einen Kontext mit bisher publizierten Daten gesetzt.

4.1. Kalorimetrie

4.1.1. Postprandiale Thermogenese

Die vor Durchführung der Studie aufgestellte Primärhypothese, wonach eine Erhöhung des Salzkonsums zu einer Verringerung der ppTh führt, wurde bestätigt. Die ppTh nach einer proteinreichen Testmahlzeit war in der Salzgruppe nach einer 14-tägigen Verdopplung der Salzzufuhr von 6 auf 12 g pro Tag signifikant niedriger als der Ausgangswert (Abbildung 7). Dieser

Effekt wurde noch deutlicher im Vergleich zur Placebogruppe, in der die mittlere Salzzufuhr über die Ernährung bei ca. 6 g pro Tag lag. Es wurde kein signifikanter Salzeffekt auf den RNU festgestellt. Insgesamt fiel die Verringerung der ppTh unter Salz geringer aus als in der explorativen Vorstudie, die an acht gesunden Männern durchgeführt wurde. Dies ist vermutlich auf die größere Fallzahl von 40 Proband*innen und der daraus resultierenden größeren individuellen Breite der ppTh zurückzuführen, die beim Gesunden einer großen intra- und interindividuellen Variabilität unterliegt (124).

Ein positiver Zusammenhang zwischen Salzkonsum und Adipositas wurde mehrfach gezeigt (40,75). Mehrere Studien zeigten zudem, dass dieser Zusammenhang unabhängig von der aufgenommenen Energiemenge besteht (39,71,75,77). Die Ursache der Adipositas ist ein komplexes Zusammenspiel aus genetischen, Umwelt- und sozio-kulturellen Faktoren, prinzipiell besteht aber ein Ungleichgewicht aus aufgenommener und verbrauchter Energiemenge (68,125). Der Gesamtenergieverbrauch des Menschen setzt sich hauptsächlich aus den drei Komponenten RNU (50-75 %), Leistungsumsatz (je nach körperlicher Aktivität 20-40 %) und ppTh (ca. 10 %) zusammen (97). Mehrere Studien konnten zeigen, dass übergewichtige Menschen neben einem geringeren RNU (126,127) auch eine signifikant niedrigere ppTh im Vergleich zu normalgewichtigen Menschen haben (96,106,128). De Jonge und Bray untersuchten 1997 in einer Übersichtsarbeit 49 Studien, die die ppTh von normalgewichtigen und übergewichtigen Menschen verglich. Von 29 Studien, in denen die Studienpopulation altersmäßig gut gematcht war und Übergewichtige einen signifikant höheren BMI als Normalgewichtige hatten, zeigten 22 Studien eine signifikant geringere ppTh bei Übergewichtigen (106). Passend dazu zeigten experimentelle Daten von Segal et al. eine inverse Korrelation zwischen ppTh und BMI sowie Körperfettgehalt bei 35 jungen Männern, denen eine hochkalorische Mahlzeit gegeben und die ppTh gemessen wurde (129). Daraus lässt sich schließen, dass Übergewichtige eine erhöhte Effizienz der Energieverwertung aufweisen, die sich unter anderem durch eine verminderte ppTh manifestiert und so zu einem verringerten Energiebedarf führt (128). Die in der Studie gemessene verringerte ppTh unter Hochsalzbedingungen könnte zusammen mit dem unveränderten RNU somit über eine langfristig positive Energiebilanz einen plausiblen Erklärungsansatz für die bisher unverstandene Assoziation zwischen hohem Salzkonsum und Adipositas liefern.

Im Laufe des letzten Jahrhunderts wurden verschiedene Einflussfaktoren auf die einzelnen Komponenten des Energiestoffwechsels identifiziert. Der RNU, die in dieser Studie keinen Interventions- oder Zeiteffekt zeigte und in beiden Gruppen im Normbereich lag, wird hauptsächlich durch die fettfreie Masse, das Alter und das Geschlecht determiniert (98). Die ppTh, die in vorliegender Studie durch Salz signifikant verringert wurde, wird primär durch die Energiemenge und den Proteingehalt der zugeführten Mahlzeit bestimmt (124). Sie setzt sich aus einem „obligatorischen“ nährstoffabhängigen Anteil für die Verdauung und Verstoffwechslung des

jeweiligen Nährstoffs und einem „fakultativen“ Anteil, der einer Wärmeproduktion entspricht, zusammen (101,102). Der fakultative Anteil der ppTh ist am ehesten auf eine Sympathikusaktivierung zurück zu führen (102). So kommt es nach einer Kohlenhydratgabe zum einen zu einer insulinvermittelten Steigerung der Noradrenalin-Freisetzung, die über β -Adrenorezeptoren im Skelettmuskel thermogen wirkt (101). Ravussin et al. zeigten in einer experimentellen Studie, dass nach einer Glucosegabe die ppTh insulinabhängig ist und somit eine Insulinresistenz für die geringere ppTh bei adipösen Menschen mitverantwortlich ist (130). Außerdem wird die fakultative Komponente der ppTh auf eine sympathoadrenerge Stimulation von braunem Fettgewebe (*brown adipose tissue*, BAT) zurück geführt (102,131). Din et al. zeigten in einer 2018 veröffentlichten klinischen Studie an 16 gesunden Proband*innen mittels einer Kombination aus indirekter Kalorimetrie und PET-CT die Rolle von BAT im postprandialen Energiestoffwechsel. Als vom BAT verwendetes Substrat spielte hierbei vor allem die insulinvermittelte Kohlenhydratoxidation eine Rolle (131). BAT wird ebenfalls unter anderem durch den Sympathikotonus aktiviert, weist eine hohe Dichte von Mitochondrien auf und hat durch die Expression von *uncoupling protein 1* (UCP-1) die Fähigkeit zur Thermogenese. Im Gegensatz dazu dient weißes Fettgewebe (*white adipose tissue*, WAT) primär als Energiespeicher, hat aber auch endokrine und immunologische Funktionen (132). Clement et al. konnten zeigen, dass die Trp64Arg-Mutation im β 3-Adrenorezeptor, der für die Regulation der Thermogenese in BAT verantwortlich ist, bei adipösen Menschen zu einer größeren Gewichtszunahme führte. Dies zeigt, dass eine gestörte Thermogenese über die gestörte Funktion von BAT als Mitursache von Adipositas eine Rolle spielt (133). Ebenfalls wird verdeutlicht warum die Assoziation zwischen Adipositas und einer verringerten ppTh in bisherigen Studien oft mit einer verringerten Sympathikusaktivität (134,135) in Verbindung gebracht wurde.

Die bisherige Datenlage zur direkten Wirkung von Salz auf den Energiestoffwechsel ist nicht eindeutig. Während es bisher keine klinischen Studien zur Wirkung von Salz auf die verschiedenen Komponenten den Energiestoffwechsels im Menschen gibt, zeigen einige tierexperimentelle Studien einen gesteigerten Energieumsatz nach einer Salzbelastung, weisen aber erhebliche methodische Unterschiede auf. Bryant et al. zeigten bereits 1984, dass Ratten die eine 0,9 % Kochsalzlösung anstatt Wasser zu trinken bekamen nach sieben Tagen eine erhöhte Menge an BAT sowie eine erhöhte ppTh hatten (136). Mutchler et al. untersuchten in einer Langzeitstudie bei Mäusen den Einfluss einer Hochsalzdiät über 16 Monate auf Energieverbrauch, Körpergewicht und Körperfett. Die Hochsalzdiät bewirkte bei Mäusen einen Anstieg des Energieumsatzes sowie eine Abnahme von Körpergewicht und Körperfett (137). Auch Coelho et al. fanden bei Ratten nach einer 12-wöchigen Hochsalzdiät ein erniedrigtes Körpergewicht, einen niedrigeren Energieumsatz und erniedrigte Spiegel an UCP-1 als Maß für BAT. Diese beiden neueren tierexperimentellen Studien stehen scheinbar im Widerspruch zu den Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe, verwendeten mit 8 % NaCl (137) und 3,12 % NaCl (138)

allerdings extrem hohe Salzgehalte in der Tiernahrung, die für den Menschen unphysiologisch wären.

Eine hohe Salzzufuhr kann die Aktivität des sympathischen Nervensystems beeinflussen (139). Coruzzi et al. beobachteten in einer klinischen Studien an 34 Proband*innen mit essentieller Hypertonie, dass eine Salz-Sensitivität mit einer schlechteren Baroreflex-Empfindlichkeit und somit einer schlechteren kardiovaskulären Anpassungsfähigkeit an sympathische Reize assoziiert war (140). In tierexperimentellen Studien konnte ebenfalls eine aktivierende Salzwirkung auf das sympathische Nervensystem zusammen mit einem Anstieg der Blutdruckvariabilität gezeigt werden (141). Im Gegensatz dazu erkannten Abrahao et al. an 11 Patienten mit arterieller Hypertonie, dass die sympathische Aktivität des N. fibularis im Zielmuskel nach einwöchiger niedriger Salzzufuhr größer war als nach anschließender einwöchiger normaler Salzzufuhr (142).

Aufgrund zahlreicher morphologischer und funktioneller Unterschiede des BAT zwischen Nagetieren und Menschen ist eine Übertragung tierexperimenteller Studienergebnisse auf den Menschen nicht ohne weiteres möglich (143). WAT kann sich im Körper zu BAT umwandeln („*fat browning*“) und die Existenz von metabolisch aktivem BAT beim erwachsenen Menschen ist erst seit wenigen Jahren durch den Einsatz von PET-CT-Verfahren bekannt (144). Deshalb ist in neueren Studien die Umwandlung von weißem zu thermogenetisch aktivem braunem Fettgewebe immer mehr in den Fokus der Adipositasforschung gerückt (143,145). Fabbiani et al. zeigten, dass Mäuse durch erzwungenes Fasten WAT in thermogenetisch aktives BAT umwandeln können. Interessanterweise geschehen diese metabolischen Veränderungen IL4- und IL13-vermittelt und sind begleitet von einer M2-Polarisation in Makrophagen im Fettgewebe (146). Makrophagen gehören zu den Immunzellen, die unter anderem bei der Regulation hypertoner Natriumdepots bei einem Salzüberschuss in Haut und Muskeln eine Schlüsselrolle spielen (19). Binger et al. zeigten, dass eine erhöhte Salzkonzentration die IL4- und IL13-abhängige Aktivierung alternativer M2-Makrophagen hemmt und folglich zu einem proinflammatorischen Salzeffekt beiträgt (147). Somit ergibt sich ein möglicher Erklärungsansatz für die hier gefundene erniedrigte ppTh unter Salz, der die Rolle von Immunzellen mit einbezieht.

Ein weiterer Erklärungsansatz für die Salzwirkung auf den Energiestoffwechsel ist über die Beeinflussung der Zusammensetzung der mikrobiellen Darmflora (dem sog. Darmmikrobiom) und dessen Metaboliten denkbar. Die Rolle des menschlichen Darmmikrobioms als Regulator seines Stoffwechsels und Energiehaushalts ist belegt und rückt immer mehr in den Fokus aktueller Forschung (148,149). Studien haben ergeben, dass Salz die Zusammensetzung des Darmmikrobioms verändern kann (150,151) und dass Veränderungen des Darmmikrobioms des Menschen auf vielfältige Art die Gesundheit beeinflussen können (152). In der Vermittlung dieser Effekte nehmen kurzkettige Fettsäuren (*short-chain-fatty-acids* SCFAs) eine Schlüsselrolle ein. SCFAs werden im Darm aus unverdaulichen Kohlenhydraten gebildet, dienen dem Wirt als direkte

Energiequelle und sind unter anderem an der Regulation des Appetits und des Energiestoffwechsels (148,153) sowie der Genese der Salz-sensitiven Hypertonie beteiligt (151). So wurde in tierexperimentellen Studien gezeigt, dass Butyrat im BAT den Mitochondrien-Stoffwechsel stimulierte und die thermogene Aktivität steigerte (154) und dass Acetat im WAT die Umwandlung zu BAT förderte (155). In humanen Studien wirkte Propionat bei übergewichtigen Personen appetitregulierend und förderte die Gewichtsregulation (156). Turnbauch et al. zeigten 2006 durch eine Charakterisierung des Darmmikrobioms bei adipösen Menschen, dass es bei gleicher Energiezufuhr zu einer erhöhten Energieausbeute aus einer Mahlzeit in der Lage ist (157). Vor diesem komplexen Zusammenspiel aus Darmmikrobiom und Energiestoffwechsel des Menschen ist es denkbar, dass in vorliegender Studie salzbedingte Mikrobiom-Veränderungen ein metabolisches Profil förderten, dass die ppTh und damit den systemischen Energiestoffwechsel beeinflusst.

4.1.2. RER und Substratverwertung

Die Art des während der Messung bevorzugt oxidierten Energiesubstrats wurde durch Berechnung der RER, definiert als das Verhältnis zwischen produziertem Kohlendioxid und verbrauchtem Sauerstoff, bestimmt. Eine höhere RER bis 1 deutet auf größeren Anteil an Kohlenhydratverwertung, eine niedrigere RER auf einen größeren Anteil an Fettverwertung hin. Nach Verzehr der Testmahlzeit kam es zunächst wie erwartet in allen Visiten in den ersten 30 Minuten zu einem Abfall der RER, was auf eine vermehrte Fettoxidation hindeutet. Diese ist Folge der Magendehnung und der daraus resultierenden Aktivierung des Sympathikus (Abbildung 8). Ebenso kam es wie erwartet anschließend ab etwa 30 Minuten nach Verzehr der Testmahlzeit zu einem Anstieg der RER. Dieser Anstieg der RER stellt eine Verschiebung von Lipid- zu Kohlenhydratoxidation im postabsorptiven Energiestoffwechsel dar. Die Ruhe-Nüchtern-RER war von allen Visiten in der Salzgruppe in V2, also nach 14-tägiger Salzbelastungsphase, am höchsten. Dieser beobachtete Unterschied war zwar nicht signifikant, deutet aber trotzdem auf einen höheren Anteil an Kohlenhydratverwertung im nüchternen Zustand hin. Fette sind energiereicher als Kohlenhydrate. Klinische Studien haben gezeigt, dass die Fettoxidation bei Übergewichtigen verringert ist (158) und dass eine verminderte Fettoxidation ein Risikofaktor für Adipositas ist (159). Folglich wäre es denkbar, dass nach einer Salzbelastungsphase eine verminderte Fettoxidation im Ruhezustand das Risiko für Übergewicht erhöht. Obwohl in vorliegender Studie die Unterschiede der RER und somit der Substratverwertung nicht signifikant waren, könnte dies zumindest teilweise den Zusammenhang zwischen einem hohen Salzkonsum und Adipositas erklären.

4.2. Kardiovaskuläre Parameter

Blutdruckparameter und die PWV wurden im Verlauf der kalorimetrischen Messung über 4 Stunden alle 15 Minuten beim in Ruhe liegenden Proband*innen gemessen. Die eingangs aufgestellte Sekundärhypothese, wonach Salz zu einer Blutdrucksteigerung und zu einem Anstieg der PWV führt, konnte nicht bestätigt werden. Systolischer und diastolischer Blutdruck befanden sich in beiden Gruppen und Visiten im normotensiven Bereich und unterlagen im Durchschnitt keinen signifikanten Änderungen. Diese Beobachtungen stehen auf den ersten Blick im Widerspruch zur etablierten Lehrmeinung, wonach ein hoher Salzkonsum zu einem Blutdruckanstieg und zu einem Anstieg der PWV führt. Epidemiologische Studien und Übersichtsarbeiten zeigen einen eindeutigen und direkten Zusammenhang zwischen Salzkonsum und Blutdruck (32,54,55) und kardiovaskulären Komplikationen (34,60). Umgekehrt konnte gezeigt werden, dass eine Verringerung des Salzkonsums zu einer Blutdrucksenkung führt (58,59).

Neben dem blutdrucksteigernden Effekt wird einer erhöhten Salzzufuhr auch eine Steigerung der PWV als Maß für die Gefäßsteifigkeit zugeschrieben. Die gemessene PWV lag in beiden Gruppen innerhalb der Referenzgrenzen für herzgesunde, normotensive Menschen vergleichbaren Alters (160) und unterlag nach der Salzbelastungsphase keinen signifikanten Änderungen.

Zahlreiche Studien, die eine Assoziation zwischen hohem Salzkonsum und Bluthochdruck in großen Kohorten zeigen konnten, berechneten die rückliegende Salzzufuhr meist näherungsweise anhand der Natriumausscheidung im Urin. Der blutdruckverändernde Effekt einer direkten und kurzzeitigen Erhöhung der Salzzufuhr, wie sie in vorliegender Studie stattfand, ist kaum untersucht. Bei einer Blutdruckmessung über wenige Stunden an wachen Proband*innen besteht im Gegensatz zu einer nächtlichen Blutdruckmessung grundsätzlich eine höhere Gefahr einer Beeinflussung des Blutdrucks durch körperliche Unruhe (161). Wilck et al. untersuchten Blutdruckveränderungen in 8 gesunden Proband*innen, die ebenfalls über 14 Tage 6 g Salz pro Tag zusätzlich zu ihrer normalen Ernährung aufnahmen. Hierbei konnten durch nächtliche Messungen signifikante systolische und diastolische Blutdrucksteigerungen nach 14 Tagen gezeigt werden (23). Trotz der in vorliegender Studie getroffenen Maßnahmen zur Schaffung einer standardisierten Messumgebung und stressreduzierender Maßnahmen (siehe 2.3.) ist eine allgemeine Unruhe während kalorimetrischer Messungen nach der Canopy-Methode, bei der Proband*innen über Stunden unter einer Haube liegen müssen, denkbar. Da die Messbedingungen hier für Proband*innen an beiden Visiten allerdings identisch waren, kommen andere Erklärungsansätze für den nicht gezeigten Blutdruckeffekt eher in Frage.

Als weiterer Grund für die ausgebliebene Blutdruckerhöhung sind natürliche interindividuelle Schwankungen der Blutdruckantwort auf die durchgeführte Salzbelastung denkbar. Als

Hauptgrund für diese interindividuelle Variabilität wird die Salz-sensitive Hypertonie angesehen, wonach nur ein Teil der Menschen auf eine Salzbelastung mit einem Blutdruckanstieg reagieren (64). Weinberger et al. postulierten, dass etwa ein Viertel der Menschen ohne vorbestehende arterielle Hypertonie „salz-sensitiv“ sind (63,64). Dieses Bild scheint sich durch die Blutdruckergebnisse der Salzgruppe zu bestätigen, in der 25 % mit einem systolischen und 44 % mit einem diastolischen Blutdruckanstieg reagierten. Durch Betrachtung der Placebogruppe wird aber klar, dass die Effekte auf ohnehin schon vorhanden natürlichen Schwankungen beruhen, da ebenso viele Placebo-Proband*innen mit einem Blutdruckanstieg reagierten.

Passend dazu wurde in der DASH-Studie die individuelle Variabilität der systolischen Blutdruckveränderung bei 188 Proband*innen untersucht, die für jeweils 30 Tage in zufälliger Reihenfolge hintereinander eine Kost mit hohem, mittleren und niedrigen Natriumgehalt zu sich nahmen. Obarzanek et al. zeigten hierbei, dass die individuelle systolische Blutdruckerhöhung auch bei konstanter Natriumzufuhr von Tag zu Tag variiert und relevanten intraindividuellen Schwankungen unterliegt (162). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Identifizierung Salz-sensitiver Menschen weiterhin eine große Herausforderung ist. Es gibt bisher keinen etablierten Test zur Diagnose der Salz-sensitivität. Häufig verwendete Protokolle zur Testung der Salz-sensitivität beim Menschen über die Jahre zeigten in manchen Studien reproduzierbare Ergebnisse (163,164), in anderen nicht (165,166). Vor diesem Hintergrund und der aufgezeigten intraindividuellen Variabilität der Blutdruckantwort auf eine Salzbelastung erscheint es sinnvoller, die Salzzufuhr in der Gesamtbevölkerung zu senken als eine individuelle Senkung der Salzzufuhr bei Salz-sensitiven Menschen anzustreben (162).

4.3. Ernährungsanalyse

Die Sekundärhypothesen, wonach eine erhöhte Salzzufuhr nicht zu einem Anstieg der Energieaufnahme über die Ernährung und der Trinkmenge führt, wurden bestätigt. Die Ernährungsanalyse, die mittels Freihand-Schätzprotokoll über zweimal drei aufeinanderfolgende Tage geführt wurde, ergab keine signifikante Veränderung der Energiemenge und der Makro- und Mikronährstoffteile innerhalb der Gruppen. Die Studienpopulation ernährte sich nach Vergleich mit den Ernährungsempfehlungen der DGE zur etwas zu fett- und proteinbetont, aber sonst weitgehend bedarfsgerecht (123) und damit der allgemeinen deutschen Bevölkerung entsprechend (121).

Die zusätzliche Salzzufuhr in der Salzgruppe hatte keinen Einfluss auf den Salzkonsum über die Ernährung, die in beiden Gruppen vor beiden Visiten etwa 6 g pro Tag betrug. Auffallend ist somit, dass beide Gruppen weniger als die geschätzte tägliche Durchschnittsmenge Speisesalz zu sich nahmen. Diese liegt laut der DEGS in Deutschland für Männer bei 10 g pro Tag und für Frauen

bei 8,4 g pro Tag (49). Dass die täglich aufgenommene Energiemenge in beiden Gruppen den DGE-Empfehlungen entsprach, spricht gegen ein relevantes *underreporting* und für eine realitätsgenaue Abbildung des Salzkonsums der Studienpopulation. Die Ernährung der Studienpopulation entsprach damit der typischen Ernährung der deutschen Normalbürger im Hinblick auf die Makronährstoffe, aber nicht auf den Salzgehalt, der niedriger war als in der Bevölkerung. Dies wurde durch den Vergleich mit Daten der Nationalen Verzehrstudie 2008 des Bundesforschungsinstituts für Ernährung und Lebensmittel deutlich (121). Hierbei muss erwähnt werden, dass ein Nachsalzen des Essens nicht in die Auswertung einfließt und die Salzgehalte in gekochtem Kantinen- und Restaurantessen schwer abschätzbar sind. Der tatsächliche Salzkonsum könnte demnach etwas höher liegen. Dieser Fehler trifft allerdings sowohl auf die vorliegenden Studienergebnisse als auch auf die Ergebnisse der Nationalen Verzehrstudie zu.

Es konnte kein relevanter Salzeffekt auf die Trinkmenge festgestellt werden, die in der Salzgruppe zwar leicht, aber nicht signifikant anstieg, während sie in der Placebogruppe minimal abfiel. Diese Ergebnisse passen zu neueren Erkenntnissen in der Regulation des Natriumhaushalts (3) und den Ergebnissen von Rakova et al., die in einer Langzeitstudie zeigte dass eine Erhöhung der Salzzufuhr von 6 auf 12 g pro Tag entgegen der etablierten Lehrmeinung zu einer geringeren Trinkmenge und einer reduzierten Wasserausscheidung führte. Die damit einhergehende Konzentrierung des Urins impliziert eine Speicherung von freiem Wasser im Körper (81).

4.4. Körperzusammensetzung und Urinanalyse

Die Sekundärhypothese, wonach eine erhöhte Salzzufuhr nicht zu einem Anstieg des Wassergehalts im Körper führt, wurde durch die BIA bestätigt. Dies passt zu neuen Erkenntnissen zur Regulation des Natriumhaushalts, wonach ein Natriumüberschuss nicht zwangsläufig zu einer Steigerung des Körperwassers führt, sondern eine osmotisch inaktive interstitielle Natriumakkumulation bewirkt, die durch Immunzellen reguliert wird (3,19). Bei der Eliminierung des intravasalen Natriums spielen renale Regulationsmechanismen die Hauptrolle. Bei der Urinanalyse zeigte sich, dass die Harnosmolarität in der Salzgruppe nicht beeinflusst wurde, die Natriumkonzentration im Urin und das Urinvolumen aber signifikant anstiegen. Die Konzentrierung von Natrium im Urin reichte vermutlich nicht aus, um den frei zirkulierenden Teil des überschüssigen Natriums auszuscheiden, sondern es musste zusätzlich ein höheres Urinvolumen ausgeschieden werden. Während die tägliche Trinkmenge unter Salz um 140 ml anstieg, stieg das tägliche Urinvolumen um 270 ml an. So ergab sich in der Salzgruppe über den 3-tägigen Messzeitraum von V1 zu V2 eine negative Wasserbilanz von insgesamt 390 ml. Die im gleichen Zeitraum auch in der Placebogruppe gemessene negative Wasserbilanz betrug lediglich 60 ml. Dass das verlorene Wasser in beiden Gruppen im Rahmen der BIA nicht wiedergefunden werden

konnte, deutet möglicherweise auf einen geringeren Salz- und Wasserverlust über die Haut in den Tagen vor V2 hin. Ebenfalls denkbar sind Ungenauigkeiten bei der Abschätzung der Trinkmenge oder beim Sammeln des Urins, die beispielsweise in einer mangelnden Compliance der Studienpopulation begründet sein könnten.

Die höhere Natriumausscheidung vor V2 in der Salzgruppe entsprach der Natriummenge, die durch die Salzkapseln zusätzlich aufgenommen wurde. Das „überschüssige“ Salz aus den Kapseln fand sich somit im Sammelurin wieder ließ sich herausrechnen. Dies stellt eine teilweise Validierung der Compliance der Studienteilnehmer hinsichtlich der Kapseleinnahme dar. Bei der Betrachtung der Natriumausscheidung fällt auf, dass trotz des 3-tägigen Messzeitraums nicht alle Proband*innen der Salzgruppe bei höherer Salzzufuhr eine höhere Natriumausscheidung hatten. Diese Beobachtung passt zur Erkenntnis, dass die Natriumausscheidung auch bei konstanter Zufuhr einer circaseptanen Rhythmik von ca. einer Woche unterliegt und die tägliche Natriumausscheidung von Tag zu Tag stark variiert (9). Möglicherweise war der 3-tägige Messzeitraum zu kurz, um bei allen Proband*innen eine erhöhte Natriumausscheidung zu erfassen. Das verdeutlicht, dass für kommende Studien zur Natriumausscheidung ein längerer Zeitraum von mehreren Tagen notwendig ist, um aussagekräftige Daten zu liefern.

4.5. Allgemeingültigkeit der Empfehlung zur Salzreduktion

Nach einer 14-tägigen Erhöhung der Salzzufuhr wurden signifikante Veränderungen im Energiestoffwechsel in Form einer verringerten ppTh nach einer proteinreichen Mahlzeit, aber keine signifikanten Änderungen in Blutdruck, Gefäßsteifigkeit und Körperzusammensetzung gemessen. Innerhalb der Salzgruppe gab es keinen positiven Zusammenhang zwischen denjenigen, die eine Verringerung der ppTh und denjenigen, die eine Blutdrucksteigerung aufwiesen. Unsere Studienergebnisse zeigen damit, dass auch bei gesunden Proband*innen mit normalem Blutdruck eine hohe Salzzufuhr einen Effekt auf den Energiestoffwechsel hat. Zudem gab es hinsichtlich der salzbedingten Veränderung der ppTh und des Blutdrucks keine geschlechtsspezifischen Unterschiede (Abbildungen 7 und 11).

Unsere Studienergebnisse zeigen eine große interindividuelle Variabilität hinsichtlich des Salzeffekts auf die gemessenen Parameter. Dies verdeutlicht, dass nicht alle Menschen dem gleichen Risiko der gesundheitsschädigen Wirkung von Salz ausgesetzt sind und deckt sich mit der Literatur, die ebenfalls sehr unterschiedlich ausgeprägte Salzeffekte zeigt. Obwohl es heutzutage einen Trend zur personalisierten Medizin gibt, ist die Identifizierung Salz-sensitiver Menschen nach wie vor eine große Herausforderung. Aus der jüngsten GBD-Studie ist ableitbar, dass der gesundheitliche Schaden einer hohen Salzzufuhr auf Bevölkerungsebene groß ist, und dass nicht nur bereits erkrankte Menschen von einer Reduzierung der Salzzufuhr profitieren. Auch

wenn noch keine Erkrankungen vorliegen, hat ein hoher Salzkonsum bereits einen relevanten Einfluss auf die physiologischen und metabolischen Abläufe im Körper. Zusammenfassend rechtfertigt dies eine allgemeingültige Empfehlung für einen reduzierten Salzkonsum, auch für gesunde Menschen.

4.6. Methodische Einschränkungen

In vorliegender Studie konnte nicht gezeigt werden, ob der Salzeffekt auf die ppTh nicht auf einer verminderten intestinalen Resorption der Testmahlzeit beruht, die durch salzbedingte Veränderungen des Darmmikrobioms hervorgerufen werden könnten. Wäre dies der Fall, wäre die verminderte salzbedingte ppTh nicht auf einen systemischen metabolischen Salzeffekt zurückzuführen. Studien haben gezeigt, dass Salz die Zusammensetzung des Darmmikrobioms beeinflussen kann (23,151). Ebenso wurde gezeigt, dass die mikrobielle Zusammensetzung der menschlichen Darmflora die Absorptionskapazität des Darms für Nährstoffe und somit die Kalorienzufuhr beeinflusst (157,167). Die Produktion von SCFAs, als Energiequelle verwertbare Abbauprodukte unverdaulicher Kohlenhydrate, hängt ebenfalls von der Zusammensetzung des Darmmikrobioms ab (148). Weitere humane Studien müssen untersuchen, ob und wie die Salzzufuhr beim Menschen die kalorische Ausbeute der aufgenommenen Nahrung über einen längeren Zeitraum beeinflusst, z.B. durch das Sammeln und die anschließende Veraschung des gesamten Stuhls. Hierzu wäre eine umfangreiche Infrastruktur in Form einer spezialisierten Stoffwechselstation (metabolic ward) notwendig.

Um eine zuverlässige Bestimmung des RNU mit einheitlichen Messbedingungen zu ermöglichen, wurden alle Proband*innen angehalten, an den Untersuchungstagen morgens vor der Untersuchung ihre körperliche Aktivität möglichst gering zu halten. Trotzdem bedingten unterschiedlich lange Anfahrtswege und Fortbewegungsmittel letztendlich unterschiedliche Belastungen am Morgen vor der Untersuchung. Zudem tolerierten manche Proband*innen das Liegen unter der Haube bei der kalorimetrischen Messung nach der Canopy-Methode besser als andere, sodass interindividuelle Unterschiede hinsichtlich des Stressniveaus während der Messung denkbar sind. Indem auf eine ausreichend lange Ruhepause vor Beginn der Messungen geachtet wurde und dieser Fehler bei beiden Messungen gleich war, kann davon ausgegangen werden, dass sich dieser Fehler stark minimiert.

V. Literaturverzeichnis

1. Cirillo M, Capasso G, Di Leo VA, De Santo NG. A history of salt. *Am J Nephrol.* 1994;14(4–6):426–31.
2. Pape H-C, Kurtz A, Silbernagl S. *Physiologie*, 9. vollständig überarbeitete Auflage. Thieme; 2019. 446–447 p.
3. Titze J. Sodium balance is not just a renal affair. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2014;23(2):101–5.
4. Rakova N, Jüttner K, Dahlmann A, Schröder A, Linz P, Kopp C, Rauh M, Goller U, Beck L, Agureev A, Vassileva G, Lenkova L, Johannes B, Wabel P, Moissl U, Vienken J, Gerzer R, Eckardt K, Müller DN, Kirsch K, Morukov B, Luft FC, Titze J. Long-term space flight simulation reveals infradian rhythmicity in human Na⁺ balance. *Cell Metab.* 2013;17(1):125–31.
5. Titze J, Rakova N, Kopp C, Dahlmann A, Jantsch J, Luft FC. Balancing wobbles in the body sodium. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31(7):1078–81.
6. Heer M, Baisch F, Kropp J, Gerzer R, Drummer C. High dietary sodium chloride consumption may not induce body fluid retention in humans. *Am J Physiol Ren Physiol.* 2000;278(4):585–95.
7. Titze J, Mailliet A, Lang R, Gunga HC, Johannes B, Gauquelin-Koch G, Kihm E, Larina I, Gharib C, Kirsch KA. Long-term sodium balance in humans in a terrestrial space station simulation study. *Am J Kidney Dis.* 2002;40(3):508–16.
8. Titze J, Luft FC. Speculations on salt and the genesis of arterial hypertension. *Kidney Int.* 2017;91(6):1324–35.
9. Birukov A, Rakova N, Lerchl K, Engberink RHO, Johannes B, Wabel P, Moissl U, Rauh M, Luft FC, Titze J. Ultra-long-term human salt balance studies reveal interrelations between sodium, potassium, and chloride intake and excretion. *Am J Clin Nutr.* 2016;104(1):49–57.
10. Titze J, Lang R, Ilies C, Schwind KH, Kirsch KA, Dietsch P, Luft FC, Hilgers KF. Osmotically inactive skin Na⁺ storage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2003;285(6):F1108–17.
11. Titze J, Bauer K, Schafflhuber M, Dietsch P, Lang R, Schwind KH, Luft FC, Eckardt KU, Hilgers KF. Internal sodium balance in DOCA-salt rats: A body composition study. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;289(4 58-4).
12. Farber SJ. Mucopolysaccharides and sodium metabolism. *Circulation.* 1960;21:941–7.
13. Titze J, Shakibaei M, Schafflhuber M, Schulze-Tanzil G, Porst M, Schwind KH, Dietsch P, Hilgers KF. Glycosaminoglycan polymerization may enable osmotically inactive Na⁺ storage in the skin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;287(1):H203-8.
14. Fischereeder M, Michalke B, Schmöckel E, Habicht A, Kunisch R, Pavelic I, Szabados B, Schönermarck U, Nelson PJ, Stangl M. Sodium storage in human tissues is mediated by glycosaminoglycan expression. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2017;313(2):F319–25.
15. Kopp C, Linz P, Wachsmuth L, Dahlmann A, Horbach T, Schöfl C, Renz W, Santoro D, Niendorf T, Müller DN, Neininger M, Cavallaro A, Eckardt KU, Schmieder RE, Luft FC, Uder M, Titze J. ²³Na magnetic resonance imaging of tissue sodium. *Hypertension.* 2012;59(1):167–72.
16. Inglese M, Madelin G, Oesingmann N, Babb JS, Wu W, Stoeckel B, Herbert J, Johnson G. Brain tissue sodium concentration in multiple sclerosis: a sodium imaging study at 3 tesla.

Brain. 2010;133(Pt. 3):847–57.

17. Kopp C, Linz P, Dahlmann A, Hammon M, Jantsch J, Müller DN, Schmieder RE, Cavallaro A, Eckart KU, Uder M, Luft FC, Titze J. 23Na magnetic resonance imaging-determined tissue sodium in healthy subjects and hypertensive patients. *Hypertension*. 2013;61(3):635–40.
18. Wiig H, Schröder A, Neuhofer W, Jantsch J, Kopp C, Karlsen TV, Boschmann M, Goss J, Bry M, Rakova N, Dahlmann A, Brenner S, Tenstad O, Nurmi H, Mervaala E, Wagner H, Beck FX, Müller DN, Kerjaschki D, Luft FC, Harrison DG, Alitalo K, Titze J. Immune cells control skin lymphatic electrolyte homeostasis and blood pressure. *J Clin Invest*. 2013;123(7):2803–15.
19. Machnik A, Neuhofer W, Jantsch J, Dahlmann A, Tammela T, Machura K, Park JN, Beck FX, Müller DN, Derer W, Goss J, Ziomber A, Dietsch P, Wagner H, Van Rooijen N, Kurtz A, Hilgers KF, Alitalo K, Eckardt KU, Luft FC, Kerjaschki D, Titze J. Macrophages regulate salt-dependent volume and blood pressure by a vascular endothelial growth factor-C-dependent buffering mechanism. *Nat Med*. 2009;15(5):545–52.
20. Machnik A, Dahlmann A, Kopp C, Goss J, Wagner H, Van Rooijen N, Eckardt KU, Müller DN, Park JK, Luft FC, Kerjaschki D, Titze J. Mononuclear phagocyte system depletion blocks interstitial tonicity-responsive enhancer binding protein/vascular endothelial growth factor c expression and induces salt-sensitive hypertension in rats. *Hypertension*. 2010;55(3):755–61.
21. Kleinewietfeld M, Manzel A, Titze J, Kvakana H, Yosef N, Linker RA, Müller DN, Hafler DA. Sodium chloride drives autoimmune disease by the induction of pathogenic TH17 cells. *Nature*. 2013;496(7446):518–22.
22. Wu C, Yosef N, Thalhammer T, Zhu C, Xiao S, Kishi Y, Regev A, Kuchroo VK. Induction of pathogenic TH17 cells by inducible salt-sensing kinase SGK1. *Nature*. 2013;496(7446):513–7.
23. Wilck N, Matus MG, Kearney SM, Olesen SW, Forslund K, Bartolomaeus H, Haase S, Mähler A, Balogh A, Markó L, Vvedenskaya O, Kleiner FH, Tsvetkov D, Klug L, Costea PI, Sunagawa S, Maier L, Rakova N, Schatz V, Neubert P, Frätzer C, Krannich A, Gollasch M, Grohme DA, Côte-Real BF, Gerlach RG, Basic M, Typas A, Wu C, Titze J, Jantsch J, Boschmann M, Dechend R, Kleinewietfeld M, Kempa S, Bork P, Linker RA, Alm J, Müller DN. Salt-responsive gut commensal modulates TH17 axis and disease. *Nature*. 2017;551(7682):585–9.
24. Coffman TM. Under pressure: the search for the essential mechanisms of hypertension. *Nat Med*. 2011;17(11):1402–9.
25. Norlander AE, Madhur MS, Harrison DG. The immunology of hypertension. *J Exp Med*. 2018;215(1):21–33.
26. WHO. Noncommunicable diseases factsheet [Internet]. World Health Organization. 2018 [cited 2020 Jun 10]. Available from: <https://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/noncommunicable-diseases>
27. GBD Diet Collaborators. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2019;393(10184):1952–72.
28. Statovci D, Aguilera M, MacSharry J, Melgar S. The Impact of Western Diet and Nutrients on the Microbiota and Immune Response at Mucosal Interfaces. *Front Immunol*. 2017;8:838.
29. Kloss L, Meyer JD, Graeve L, Vetter W. Sodium intake and its reduction by food

-
- reformulation in the European Union - A review. *NFS J.* 2015;1:9–19.
30. WHO. Mapping salt reduction initiatives in the WHO European Region. WHO Regional Office for Europe. 2013.
 31. Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V, Elliott P. Salt intakes around the world: implications for public health. *Int J Epidemiol.* 2009;38(3):791–813.
 32. Stamler J. The INTERSALT Study : background, methods, findings, and implications. *Am J Clin Nutr.* 1997;65(2 Suppl):626S-642S.
 33. Mentz A, O'Donnell MJ, Rangarajan S, McQueen MJ, Poirier P, Wielgosz A, Morrison H, Li W, Wang X, Di C, Mony P, Devanath A, Rosengren A, Oguz A, Zatonska K, Yusufali AH, Lopez-Jaramillo P, Avezum A, Ismail N, Lanas F, Puoane T, Diaz R, Kelishadi R, Iqbal R, Yusuf R, Chifamba J, Khatib R, Teo K, Yusuf S. Association of Urinary Sodium and Potassium Excretion with Blood Pressure. *N Engl J Med.* 2014;371(7):601–11.
 34. Mentz A, O'Donnell M, Rangarajan S, Dagenais G, Lear S, McQueen M, Diaz R, Avezum A, Lopez-Jaramillo P, Lanas F, Li W, Lu Y, Yi S, Rensheng L, Iqbal R, Mony P, Yusuf R, Yusoff K, Szuba A, Oguz A, Rosengren A, Bahonar A, Yusufali A, Schutte AE, Chifamba J, Mann JFE, Anand SS, Teo K, Yusuf S. Associations of urinary sodium excretion with cardiovascular events in individuals with and without hypertension: a pooled analysis of data from four studies. *Lancet.* 2016;388(10043):465–75.
 35. Mozaffarian D, Fahimi S, Singh GM, Micha R, Khatibzadeh S, Engell RE, Lim S, Danaei G, Ezzati M, Powles J. Global sodium consumption and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med.* 2014;371(7):624–34.
 36. Müller DN, Wilck N, Haase S, Kleinewietfeld M, Linker RA. Sodium in the microenvironment regulates immune responses and tissue homeostasis. *Nat Rev Immunol.* 2019;19(4):243–254.
 37. Farez MF, Fiol MP, Gaitán MI, Quintana FJ, Correale J. Sodium intake is associated with increased disease activity in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2015;86(1):26–31.
 38. Tsugane S. Salt, salted food intake, and risk of gastric cancer: Epidemiologic evidence. *Cancer Sci.* 2005;96(1):1–6.
 39. Ma Y, He FJ, Macgregor GA. High salt intake: Independent risk factor for obesity? *Hypertension.* 2015;66(4):843–9.
 40. Moosavian SP, Haghghatdoost F, Surkan PJ, Azadbakht L. Salt and obesity : a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int J Food Sci Nutr.* 2017;68(3):265–77.
 41. Ogihara T, Asano T, Ando K, Sakoda H, Anai M, Shojima N, Ono H, Onishi Y, Fujishiro M, Abe M, Fukushima Y, Kikuchi M, Fujita T. High-salt diet enhances insulin signaling and induces insulin resistance in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension.* 2002;40(1):83–9.
 42. WHO. Guideline: Sodium intake for adults and children. World Health Organization. 2012.
 43. Strohm D, Boeing H, Leschik-Bonnet E, Heseker H, Knorpp L, Kroke A. for the German Nutrition Society (DGE) (2016) Salt intake in Germany, health consequences, and resulting recommendations for action. A scientific statement from the German Nutrition Society (DGE). *Ernährungs Umschau.* 2016;63(03):62–70.
 44. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Hear J.* 2018;39(33):3021–104.
-

-
45. Weber MA, Schiffrin EL, White WB, Mann S, Lindholm LH, Kenerson JG, Flack JM, Carter BL, Materson BJ, Ram CVS, Cohen DL, Cadet JC, Jean-Charles RR, Taler S, Kountz D, Townsend RR, Chalmers J, Ramirez AJ, Bakris GL, Wang J, Schutte AE, Bisognano JD, Touyz RM, Sica D, Harrap SB. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. *J Clin Hypertens*. 2014;16(1):14–26.
 46. WHO. Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013-2020. World Health Organization. 2013.
 47. Powles J, Fahimi S, Micha R, Khatibzadeh S, Shi P, Ezzati M, Engell RE, Lim SS, Danaei G, Mozaffarian D. Global, regional and national sodium intakes in 1990 and 2010: a systematic analysis of 24 h urinary sodium excretion and dietary surveys worldwide. *BMJ Open*. 2013;3(12):e003733.
 48. European Commission, Survey on Member States' implementation of the EU salt reduction framework. [Internet]. European Commission. 2012 [cited 2021 Jun 10]. Available from: doi/10.2772/50212
 49. DEGS. Ergebnisse der DEGS-Studie. *Ernährungs Umschau*. 2011;63(2016):62–70.
 50. WHO. Cardiovascular Diseases Factsheet [Internet]. 2017 [cited 2021 Jun 10]. Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
 51. WHO. Hypertension Factsheet [Internet]. 2019 [cited 2021 Jun 10]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>
 52. Herold G. *Innere Medizin 2020*. Berlin: Boston: De Gruyter; 2020. 723 p.
 53. Ambard L, Beaujard E. Causes de l' hypertension arterielle. *Arch Gen Med*. 1904;1:520–533.
 54. Meneton P, Jeunemaitre X, Wardener HE de, Macgregor GA. Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases. *Physiol Rev*. 2005;85(2):679–715.
 55. He FJ, Macgregor GA. Salt, blood pressure and cardiovascular disease. *Curr Opin Cardiol*. 2007;22(4):298–305.
 56. Aburto NJ, Ziolkovska A, Hooper L, Elliott P, Cappuccio FP, Meerpohl JJ. Effect of lower sodium intake on health: Systematic review and meta-analyses. *BMJ*. 2013;346:f1326.
 57. He FJ, Li J, Macgregor GA. Effect of longer term modest salt reduction on blood pressure: Cochrane systematic review and meta-analysis of randomised trials. *BMJ*. 2013;346:f1325.
 58. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, Obarzanek E, Conlin PR, Miller ER, Simons-Morton DG, Karanja N, Lin PH. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 2001;344(1):3–10.
 59. He FJ, MacGregor GA. Role of salt intake in prevention of cardiovascular disease: controversies and challenges. *Nat Rev Cardiol*. 2018;15(6):371–7.
 60. Martin O'Donnell M, Mente A, Rangarajan S, McQueen MJ, Wang X, Liu L, Yan H, Lee SF, Mony P, Devanath A, Rosengren A, Lopez-Jaramillo P, Diaz R, Avezum A, Lanas F, Yusuf K, Iqbal R, Ilow R, Mohammadifard N, Gulec S, Yusufali AH, Kruger L, Yusuf R, Chifamba J, Kabali C, Dagenais G, Lear SA, Teo K, Yusuf S. Urinary sodium and potassium excretion, mortality, and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2014;371(7):612–23.
 61. Graudal N, Jürgens G, Baslund B, Alderman MH. Compared with usual sodium intake, low- and excessive-sodium diets are associated with increased mortality: a meta-analysis. *Am*

-
- J Hypertens. 2014;27(9):1129–37.
62. Neal B, Wu Y, Feng X, Zhang R, Zhang Y, Shi J, Zhang J, Tian M, Huang L, Li Z, Yu Y, Zhao Y, Zhou B, Sun J, Liu Y, Yin X, Hao Z, Yu J, Li KC, Zhang X, Duan P, Wang F, Ma B, Shi W, Di Tanna GL, Stepien S, Shan S, Pearson SA, Li N, Yan LL, Labarthe D, Elliott P. Effect of Salt Substitution on Cardiovascular Events and Death. *N Engl J Med*. 2021;385(12):1067–77.
 63. Weinberger MH. Salt sensitivity as a predictor of hypertension. *Am J Hypertens*. 1991;4(11):615S-616S.
 64. Weinberger MH. Salt Sensitivity of Blood Pressure in Humans. *Hypertension*. 1996;27(3):481–90.
 65. Weinberger MH, Fineberg NS, Fineberg SE, Weinberger M. Salt sensitivity, pulse pressure, and death in normal and hypertensive humans. *Hypertension*. 2001;37(2 Pt 2):429–32.
 66. WHO technical report series; 894. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. 2003.
 67. Caballero B. The global epidemic of obesity: an overview. *Epidemiol Rev*. 2007;29(7):1–5.
 68. WHO. Factsheet Obesity and overweight [Internet]. 2020 [cited 2021 Jun 6]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
 69. Tremmel M, Gerdtham UG, Nilsson PM, Saha S. Economic burden of obesity: A systematic literature review. *Int J Environ Res Public Health*. 2017;14(4):435.
 70. Yi SS, Firestone MJ, Beasley JM. Independent associations of sodium intake with measures of body size and predictive body fatness. *Obesity*. 2015;23(1):20–3.
 71. Song HJ, Cho YG, Lee H. Dietary sodium intake and prevalence of overweight in adults. *Metabolism*. 2013;62(5):703–8.
 72. Lee SK, Kim MK. Relationship of sodium intake with obesity among Korean children and adolescents: Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Br J Nutr*. 2016;115(5):834–41.
 73. Titze J. Estimating salt intake in humans: not so easy! *Am J Clin Nutr*. 2017;105(6):1253–4.
 74. Zhou L, Tian Y, Fu J, Jiang Y, Bai Y, Zhang Z, Hu XH, Lian HW, Guo M, Yang ZX, Zhao LC. Validation of spot urine in predicting 24-h sodium excretion at the individual level. *Am J Clin Nutr*. 2017;105(6):1291–6.
 75. Zhou L, Stamler J, Chan Q, Van Horn L, Daviglius ML, Dyer AR, Miura K, Okuda N, Wu Y, Ueshima H, Elliott P, Zhao L. Salt intake and prevalence of overweight/obesity in Japan, China, the United Kingdom, and the United States: the INTERMAP Study. *Am J Clin Nutr*. 2019;110(1):34–40.
 76. Larsen SC, Ångquist L, Sörensen TIA, Heitmann BL. 24h urinary sodium excretion and subsequent change in weight, waist circumference and body composition. *PLoS One*. 2013;8(7):e69689.
 77. Libuda L, Kersting M, Alexy U. Consumption of dietary salt measured by urinary sodium excretion and its association with body weight status in healthy children and adolescents. *Public Health Nutr*. 2012;15(3):433–41.
 78. He FJ, Marrero NM, Macgregor GA. Salt intake is related to soft drink consumption in children and adolescents: a link to obesity? *Hypertension*. 2008;51(3):629–34.
 79. Grimes CA, Riddell LJ, Campbell KJ, Nowson CA. Dietary salt intake, sugar-sweetened
-

-
- beverage consumption, and obesity risk. *Pediatrics*. 2013;131(1):14–21.
80. Pitts RF. *Physiologie der Niere und der Körperflüssigkeiten*. Stuttgart u.a.: Schattauer; 1972.
81. Rakova N, Kitada K, Lerchl K, Dahlmann A, Birukov A, Daub S, Kopp C, Pedchenko T, Zhang Y, Beck L, Johannes B, Marton A, Müller DN, Rauh M, Luft FC, Titze J. Increased salt consumption induces body water conservation and decreases fluid intake. *J Clin Invest*. 2017;127(5):1932–43.
82. Kitada K, Daub S, Zhang Y, Klein JD, Nakano D, Pedchenko T, Lantier L, LaRocque LM, Marton A, Neubert P, Schröder A, Rakova N, Jantsch J, Dikalova AE, Dikalov SI, Harrison DG, Müller DN, Nishiyama A, Rauh M, Harris RC, Luft FC, Wassermann DH, Sands JM, Titze J. High salt intake reprioritizes osmolyte and energy metabolism for body fluid conservation. *J Clin Invest*. 2017;127(5):1944–59.
83. Morris MJ, Na ES, Johnson AK. Salt craving: the psychobiology of pathogenic sodium intake. *Physiol Behav*. 2008;94(5):709–21.
84. Cocores JA, Gold MS. The Salted Food Addiction Hypothesis may explain overeating and the obesity epidemic. *Med Hypotheses* 2009;73(6):892–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2009.06.049>
85. Hurley SW, Johnson AK. The biopsychology of salt hunger and sodium deficiency. *Pflugers Arch*. 2015;467(3):445–56.
86. Deglaire A, Méjean C, Castetbon K, Hercberg S, Schlich P. Associations between weight status and liking scores for sweet, salt and fat according to the gender in adults (The Nutrinet-Santé study). *Eur J Clin Nutr*. 2015;69(1):40–6.
87. Lampuré A, Castetbon K, Deglaire A, Schlich P, Péneau S, Hercberg S, Méjean C. Associations between liking for fat, sweet or salt and obesity risk in French adults: a prospective cohort study. *Int J Behav Nutr Phys Act*. 2016;13:74.
88. Fonseca-Alaniz MH, Brito LC, Borges-silva CN, Takada J, Andreotti S, Lima FB. High dietary sodium intake increases white adipose tissue mass and plasma leptin in rats. *Obesity*. 2007;15(9):2200–8.
89. Considine R, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1996;334(5):292–5.
90. Izquierdo AG, Crujeiras AB, Casanueva FF, Carreira MC. Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? *Nutrients*. 2019;11(11):2704.
91. Lee M, Sorn SR, Lee Y, Kang I. Salt Induces Adipogenesis/Lipogenesis and Inflammatory Adipocytokines Secretion in Adipocytes. *Int J Mol Sci*. 2019;20(1):160.
92. Lanaspá MA, Kuwabara M, Andres-Hernando A, Li N, Cicerchi C, Jensen T, Orlicky DJ, Roncal-Jimenez CA, Ishimoto T, Nakagawa T, Rodriguez-Iturbe B, MacLean PS, Johnson RJ. High salt intake causes leptin resistance and obesity in mice by stimulating endogenous fructose production and metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2018;115(12):3138–43.
93. Lee JH, Lee HH, Ye BJ, Lee-kwon W, Choi SY, Kwon HM. TonEBP suppresses adipogenesis and insulin sensitivity by blocking epigenetic transition of PPAR γ 2. *Sci Rep*. 2015;5:10937.
94. Lee HH, An SM, Ye BJ, Lee JH, Yoo EJ, Jeong GW, Kang HJ, Alfadda AA, Lim SW, Park J, Lee-Kwon W, Kim JB, Choi SY, Kwon HM. TonEBP/NFAT5 promotes obesity and insulin resistance by epigenetic suppression of white adipose tissue beiging. *Nat Commun*. 2019;10(1):3536.
-

-
95. de Jonge L, Bray G a. The thermic effect of food and obesity: a critical review. *Obes Res.* 1997;5(6):622–31.
 96. Segal KR, Gutin B, Albu J, Pi-Sunyer FX. Thermic effects of food and exercise in lean and obese men of similar lean body mass. *Am J Physiol.* 1987;252(1 Pt 1):E110-7.
 97. Frayn KN. *Metabolic regulation: A Human Perspective*, 3rd Edition. Wiley-Blackwell. London; 2013. 330–332 p.
 98. Bogardus C, Lillioja S, Ravussin E, Abbott W, Zawadzki J, Young A, Knowler WC, Jacobowitz R, Moll PP. Familial dependence of the resting metabolic rate. *N Engl J Med.* 1986;315(2):96–100.
 99. Ravussin E, Lillioja S, Anderson TE, Christin L, Bogardus C. Determinants of 24-hour energy expenditure in man. Methods and results using a respiratory chamber. *J Clin Invest.* 1986;78(6):1568–78.
 100. Biesalski H, Noack R. *Ernährungsmedizin*. Stuttgart . New York: Thieme Verlag; 1995. 22–25 p.
 101. Astrup A, Bülow J, Christensen NJ, Madsen J, Quaade F. Facultative thermogenesis induced by carbohydrate: a skeletal muscle component mediated by epinephrine. *Am J Physiol.* 1986;250(2 Pt 1):E226-9.
 102. Acheson KJ, Ravussin E, Wahren J, Jequier E. Thermic effect of glucose in man. Obligatory and facultative thermogenesis. *J Clin Invest.* 1984;74(5):1572–80.
 103. Ashcraft CM, Frankenfield DC. Validity Test of a New Open-Circuit Indirect Calorimeter. *J Parenter Enter Nutr.* 2015;39(6):738–42.
 104. Ferrannini E. The theoretical bases of indirect calorimetry: A review. *Metabolism.* 1988;37(3):287–301.
 105. Jessen AB, Toubro S, Astrup A. Effect of chewing gum containing nicotine and caffeine on energy expenditure and substrate utilization in men. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(6):1442–7.
 106. de Jonge L, Bray GA. The thermic effect of food and obesity: a critical review. *Obes Res.* 1997;5(6):622–31.
 107. Jung CM, Melanson EL, Frydendall EJ, Perreault L, Eckel RH, Wright KP. Energy expenditure during sleep, sleep deprivation and sleep following sleep deprivation in adult humans. *J Physiol.* 2011;589(1):235–44.
 108. Harris JA, Benedict FG. A Biometric Study of Human Basal Metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1918;4(12):370–3.
 109. Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, Heitmann BL, Kent-Smith L, Melchior JC, Pirlich M, Scharfetter H, Schols AMWJ, Pichard C. Bioelectrical impedance analysis - part I: review of principles and methods. *Clin Nutr.* 2004;23(5):1226–43.
 110. Chumlea WC, Guo SS. Bioelectrical impedance and body composition: present status and future directions. *Nutr Rev.* 1994;52(4):123–31.
 111. Withers RT, LaForgia J, Pillans RK, Shipp NJ, Chatterton BE, Schultz CG, Leaney F. Comparisons of two-, three-, and four-compartment models of body composition analysis in men and women. *J Appl Physiol.* 1998;85(1):238–45.
 112. Organ LW, Bradham GB, Gore DT, Lozier SL. Segmental bioelectrical impedance analysis - theory and application of a new technique. *J Appl Physiol.* 1994;77(1):98–112.
 113. Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald P, Hodgdon JA, Van Itallie TB. Lean body mass

-
- estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study. *Am J Clin Nutr.* 1988;47(1):7–14.
114. Kushner RF. Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. *J Am Coll Nutr.* 1992;11(2):199–209.
 115. Lukaski HC, Bolonchuk WW, Hall CB, Siders WA. Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition. *J Appl Physiol* 1986;60(4):1327–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3700310>
 116. Lukaski H, Johnson P, Bolonchuk W, Lykken G. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr.* 1985;41(4):810–7.
 117. Piccoli A, Rossi B, Pillon L, Bucciante G. A new method for monitoring body fluid variation by bioimpedance analysis: the RXc graph. *Kidney Int.* 1994;46(2):534–9.
 118. Piccoli A, Nigrelli S, Caberlotto A, Bottazzo S, Rossi B, Pillon L, Maggiore Q. Bivariate normal values of the bioelectrical impedance vector in adult and elderly populations. *Am J Clin Nutr.* 1995;61(2):269–70.
 119. Durchführung und Interpretation von phasensensitiven BIA Messungen mit BodyComp V 9.0. Leitfaden BIA-Auswertung. MEDI CAL Healthc GmbH, Amalienbadstr 41, 76227 Karlsruhe. 2021;
 120. Müller MJ. Ernährungsmedizinische Praxis. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 1998.
 121. Nationale Verzehrstudie II - Bundesweite Befragung zur Ernährung von Jugendlichen und Erwachsenen. 2008.
 122. Schulz KF, Altman DG, Moher D. CONSORT 2010: Aktualisierte Leitlinie für Berichte randomisierter Studien im Parallelgruppen-Design. *Dtsch Med Wochenschr.* 2011;136(15):e26.
 123. Deutsche Gesellschaft für Ernährung: D-A-CH-Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Bonn; 2021.
 124. Westerterp KR. Diet induced thermogenesis. *Nutr Metab (Lond).* 2004;1(1):5.
 125. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15(5):288–298.
 126. Galgani J, Ravussin E. Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation. *Int J Obes.* 2008;32(Suppl 7):S109-19.
 127. Astrup A, Gotzsche PC, van de Werken K, Ranneries C, Toubro S, Raben A, Buemann B. Meta-analysis of resting metabolic rate in formerly obese subjects. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(6):1117–22.
 128. Steiniger J, Karst H, Noack R, Steglich D. Reduzierte nahrungsinduzierte Thermogenese bei Adipositas. *Nahrung.* 1982;26(4):K23–6.
 129. Segal KR, Chun A, Coronel P, Cruz-Noori A, Santos R. Reliability of the measurement of postprandial thermogenesis in men of three levels of body fatness. *Metabolism.* 1992;41(7):754–62.
 130. Ravussin E, Acheson KJ, Vernet O, Danforth E, Jéquier E. Evidence that insulin resistance is responsible for the decreased thermic effect of glucose in human obesity. *J Clin Invest.* 1985;76(3):1268–73.
 131. Din MU, Saari T, Raiko J, Kudomi N, Maurer SF, Lahesmaa M, Fromme T, Amri EZ, Klingenspor M, Solin O, Nuutila, Virtanen KA. Postprandial Oxidative Metabolism of Human
-

Brown Fat Indicates Thermogenesis. *Cell Metab.* 2018;28(2):207-216.e3.

132. Townsend KL, Tseng Y. Brown adipose tissue: Recent insights into development, metabolic function and therapeutic potential. *Adipocyte.* 2012;1(1):13–24.
133. Clément K, Vaisse C, Manning B, Basdevant A, Guy-Grand B, Ruiz J, Silver KD, Schuldiner AR, Froguel P, Strosberg D. Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med.* 1995;333(6):352–4.
134. Astrup A V., Christensen NJ, Breum L. Reduced plasma noradrenaline concentrations in simple-obese and diabetic obese patients. *Clin Sci.* 1991;80(1):53–8.
135. Acheson KJ. Influence of autonomic nervous system on nutrient-induced thermogenesis in humans. *Nutrition.* 1993;9(4):373–80.
136. Bryant KR, Rothwell NJ, Stock MJ. Influence of sodium intake on thermogenesis and brown adipose tissue in the rat. *Int J Obes.* 1984;8(3):221-31.
137. Mutchler SM, Hasan M, Mutchler MM, Xie B, Mills A, Sipula I, Jurczak MJ, Kleyman TR. Long-Term High Salt Consumption Decreases Body Weight and Fat Accumulation in Mice in Association with Increased Energy Expenditure and Whole-body Fat Oxidation. *FASEB J.* 2020;34(S1):1–1.
138. Coelho MS, Passadore MD, Gasparetti AL, Bibancos T, Furukawa LNS, Fukui RT, Casarini DE, Saad MJA, Luz J, Chiavegatto S, Dolnikoff MS, Heimann JC. High- or low-salt diet from weaning to adulthood: effect on body weight, food intake and energy balance in rats. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006;16(2):148–55.
139. Grillo A, Salvi L, Coruzzi P, Salvi P, Parati G. Sodium intake and hypertension. *Nutrients.* 2019;11(9):1–16.
140. Coruzzi P, Parati G, Brambilla L, Brambilla V, Gualerzi M, Novarini A, Castiglioni P, Di Rienzo M. Effects of salt sensitivity on neural cardiovascular regulation in essential hypertension. *Hypertension.* 2005;46(6):1321–6.
141. Simmonds SS, Lay J, Stocker SD. Dietary salt intake exaggerates sympathetic reflexes and increases blood pressure variability in normotensive rats. *Hypertension.* 2014;64(3):583–9.
142. Abrahao SB, Tinucci T, Santello JL, Mion DJ. Salt suppresses baseline muscle sympathetic nerve activity in salt-sensitive and salt-resistant hypertensives. *J Hum Hypertens.* 2002;16(12):843–50.
143. Liu X, Cervantes C, Liu F. Common and distinct regulation of human and mouse brown and beige adipose tissues: a promising therapeutic target for obesity. *Protein Cell.* 2017;8(6):446–54.
144. Cypress AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine A, Kuo FC, Palmer EL, Tseng YH, Doria A, Kolodny GM, Kahn CR. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med.* 2009;360(15):1509–17.
145. Herz CT, Kiefer FW. Adipose tissue browning in mice and humans. *J Endocrinol.* 2019;241(3):R97–109.
146. Fabbiano S, Suárez-Zamorano N, Rigo D, Veyrat-Durebex C, Stevanovic Dokic A, Colin DJ, Trajkovski M. Caloric Restriction Leads to Browning of White Adipose Tissue through Type 2 Immune Signaling. *Cell Metab.* 2016;24(3):434–46.
147. Binger KJ, Gebhardt M, Heinig M, Rintisch C, Schröder A, Neuhofer W, Hilgers K, Manzel A, Schwartz C, Kleinewietfeld M, Voelkl J, Schatz V, Linker RA, Lang F, Voehringer D, Wright MD, Hubner N, Dechend R, Jantsch J, Titze J, Müller DN. High salt reduces the

-
- activation of IL-4- and IL-13-stimulated macrophages. *J Clin Invest*. 2015;125(11):4228–38.
148. Cani PD, Hul M Van, Lefort C, Depommier C, Rastelli M, Everard A. Microbial regulation of organismal energy homeostasis. *Nat Metab*. 2019;1(1):34–46.
149. Visconti A, Le Roy CI, Rosa F, Rossi N, Martin TC, Mohny RP, Li W, Rinaldis E, Bell JT, Venter JC, Nelson KE, Spector TD, Falchi M. Interplay between the human gut microbiome and host metabolism. *Nat Commun*. 2019;10(1):4505.
150. Wilck N, Balogh A, Markó L, Bartolomeus H, Müller DN. The role of sodium in modulating immune cell function. *Nat Rev Nephrol*. 2019;15(9):546–58.
151. Bier A, Braun T, Khasbab R, Segni A Di, Grossman E, Haberman Y, Leibowitz A. A High Salt Diet Modulates the Gut Microbiota and Short Chain Fatty Acids Production in a Salt-Sensitive Hypertension Rat Model. *Nutrients*. 2018;10(9):1154.
152. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GDA, Hirsch GM, Hold G, Quraishi MN, Kinross J, Smidt H, Tuohy KM, Thomas LV, Zoetendal EG, Hart A. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*. 2016;65(2):330–9.
153. Byrne CS, Chambers ES, Morrison DJ, Frost G. The role of short chain fatty acids in appetite regulation and energy homeostasis. *Int J Obes*. 2015;39(9):1331–8.
154. Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevre M, Cefalu WT, Ye J. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. *Diabetes*. 2009;58(7):1509–17.
155. Li G, Xie C, Lu S, Nichols RG, Tian Y, Li L, Patel D, Ma Y, Brocker CN, Yan T, Krausz KW, Xiang R, Gavrilova O, Patterson AD, Gonzalez FJ. Intermittent Fasting Promotes White Adipose Browning and Decreases Obesity by Shaping the Gut Microbiota. *Cell Metab*. 2017;26(4):672-685.e4.
156. Chambers ES, Viardot A, Psichas A, Morrison DJ, Murphy KG, Zac-Varghese SEK, MacDougall K, Preston T, Tedford C, Finlayson GS, Blundell JE, Bell JD, Thomas EL, Mt-Isa S, Ashby D, Gibson GR, Kolida S, Dhillo WS, Bloom SR, Morley W, Clegg S, Frost G. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut*. 2015;64(11):1744–54.
157. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444(7122):1027–1031.
158. Schifflers SLH, Saris WHM, Boomsma F, Van Baak MA. beta(1)- and beta(2)-Adrenoceptor-mediated thermogenesis and lipid utilization in obese and lean men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(5):2191–9.
159. Rogge MM. The Role of Impaired Mitochondrial Lipid Oxidation in Obesity. *Biol Res Nurs*. 2009;10(4):356–73.
160. Mattace-Raso FUS, Hofman A, Verwoert GC, Wittemana JCM, Wilkinson I, Cockcroft J, and the Reference Values For Arterial Stiffness Collaboration. Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: “establishing normal and reference values.” *Eur Heart J*. 2010;31(19):2338–50.
161. Hansen TW, Li Y, Boggia J, Thijs L, Richart T, Steassen JA. Predictive role of the nighttime blood pressure. *Hypertension*. 2011;57(1):3–10.
162. Obarzanek E, Proschan MA, Vollmer WM, Moore TJ, Sacks FM, Appel LJ, Svetkey LP, Most-Windhauser MM, Cutler JA. Individual blood pressure responses to changes in salt intake: Results from the DASH-sodium trial. *Hypertension*. 2003;42(4 I):459–67.
-

-
163. Sharma A, Schattenfroh S, Kribben A, Distler A. Reliability of salt-sensitivity testing in normotensive subjects. *Klin Wochenschr.* 1989;67(12):632–4.
 164. Weinberger MH, Fineberg NS. Sodium and volume sensitivity of blood pressure. Age and pressure change over time. *Hypertension.* 1991;18(1):67–71.
 165. Zoccali C, Mallamaci F, Cuzzola F, Leonardis D. Reproducibility of the response to short-term low salt intake in essential hypertension. *J Hypertens.* 1996;14(12):1455–9.
 166. Mattes RD, Falkner B. Salt-sensitivity classification in normotensive adults. *Clin Sci.* 1999;96(5):449–459.
 167. Jumpertz R, Le DS, Turnbaugh PJ, Trinidad C, Bogardus C, Gordon JI, Krakoff J. Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 2011;94(1):58–65.

VI. Eidesstattliche Versicherung / Anteilserklärung

„Ich, Samuel Klamer, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Der Einfluss von Kochsalz auf Energiestoffwechsel und kardiovaskuläre Parameter gesunder Männer und Frauen – eine randomisierte Placebo-kontrollierte Studie / The effect of table salt on energy metabolism and cardiovascular parameters in healthy men and women – a randomized, placebo-controlled study selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilserklärung an erfolgten Publikationen

Samuel Klamer hatte folgenden Anteil an vorgelegter Publikation:

Anja Mähler, **Samuel Klamer**, András Maifeld, Hendrik Bartolomaeus, Lajos Markó, Chia-Yu Chen, Sofia K Forslund, Michael Boschmann, Dominik N Müller, Nicola Wilck: **Increased Salt Intake Decreases Diet-Induced Thermogenesis in Healthy Volunteers: A Randomized Placebo-Controlled Study**, *Nutrients*. 2022 Jan 7;14(2):253

Beitrag im Einzelnen:

- a) Durchführung der Experimente und deren Auswertung: Samuel Klamer war hauptverantwortlich für die Proband*innenrekrutierung, Planung und Durchführung der Studienvisiten incl. Proband*innenbetreuung, Kalorimetrischen Messungen, Erfassung der Blutdruckdaten und Auswertung der Ernährungsprotokolle. Samuel Klamer war verantwortlich für die kontinuierliche Datenpflege, Teile der statistischen Auswertung und Interpretation der Ergebnisse. Aus seiner statistischen Auswertung sind die Abbildungen 2 und 3 entstanden.
- b) Schreiben der Publikation: Die Erstellung des ersten Entwurfs des Manuskripts wurde von A. Mähler durchgeführt. An der Überarbeitung des Manuskripts hatten alle Koautor*innen Anteil.

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

VII. Curriculum Vitae

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

VIII. Publikationsliste

1. Anja Mähler, **Samuel Klammer**, András Maifeld, Hendrik Bartolomaeus, Lajos Markó, Chia-Yu Chen, Sofia K Forslund, Michael Boschmann, Dominik N Müller, Nicola Wilck: Increased Salt Intake Decreases Diet-Induced Thermogenesis in Healthy Volunteers: A Randomized Placebo-Controlled Study, *Nutrients*. 2022 Jan 7;14(2):253

2. Lajos Markó, Joon-Keun Park, Norbert Henke, Song Rong, András Balogh, **Samuel Klammer**, Hendrik Bartolomaeus, Nicola Wilck, Jürgen Ruland, Sofia K Forslund, Friedrich C Luft, Ralf Dechend, Dominik N Müller: B-cell lymphoma/leukemia 10 (Bcl10) and angiotensin II-induced kidney injury, *Cardiovascular Research*. 2020; 116:5: 1059–1070

IX. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt zuallererst Dr. Anja Mähler für die Betreuung dieser Arbeit. Ohne ihre fachliche Förderung, die ständige Unterstützung sowie ihre Geduld, Ruhe und Weitsicht hätte diese Arbeit so nicht fertiggestellt werden können.

Ich danke Prof. Dr. Dominik Müller und Prof. Dr. Ralf Dechend für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit, diese Promotion durchzuführen. Dem gesamten Team der AG Müller/Dechend danke ich für die vielen gemeinsamen Stunden des wissenschaftlichen und nichtwissenschaftlichen Austauschs. Ich danke Dr. Nicola Wilck für die Denkanstöße und cake-clubs. In ungeordneter Reihenfolge danke ich Sabrina, Hendrik, Lajos, András, Gabi, Gabi, Heike, Jana, Astrid, Jule, Lars, Natalia, Michael und Lukasz.

Ich danke allen Proband*innen für die freiwillige Teilnahme an dieser Studie.

Marlene danke ich für ihr besonders aufmerksames Korrekturlesen. Last but not least danke ich meiner Familie und Julia für ihre Geduld und ihre Unterstützung.

X. Bescheinigung Statistik



CharitéCentrum für Human- und Gesundheitswissenschaften

Charité | Campus Charité Mitte | 10117 Berlin

Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie (iBikE)

Direktor: Prof. Dr. Geraldine Rauch

Postanschrift:
Charitéplatz 1 | 10117 Berlin
Besucheranschrift:
Reinhardtstr. 58 | 10117 Berlin

Tel. +49 (0)30 450 562171
geraldine.rauch@charite.de
<https://biometrie.charite.de/>



Name, Vorname: Klamer, Samuel

Emailadresse: samuel.klamer@charite.de

Matrikelnr.: 226001

PromotionsbetreuerIn: Prof. Dominik N. Müller

Promotionsinstitution/Klinik: Experimental & Clinical
Research Center (ECRC)

Bescheinigung

Hiermit bescheinige ich, dass Herr Samuel Klamer innerhalb der Service Unit Biometrie des Instituts für Biometrie und Klinische Epidemiologie (iBikE) bei mir eine statistische Beratung zu einem Promotionsvorhaben wahrgenommen hat. Folgende Beratungstermine wurden wahrgenommen:

- Termin 1: 09.04.2020
- Termin 2: 30.09.2020

Folgende wesentliche Ratschläge hinsichtlich einer sinnvollen Auswertung und Interpretation der Daten wurden während der Beratung erteilt:

- Modellierung von Messwiederholungen (1- und 2-way RM-ANOVA, Mixed Effects Models im Falle von Missings),
- Interpretation von p-Werten in unterschiedlichen Zusammenhängen

Diese Bescheinigung garantiert nicht die richtige Umsetzung der in der Beratung gemachten Vorschläge, die korrekte Durchführung der empfohlenen statistischen Verfahren und die richtige Darstellung und Interpretation der Ergebnisse. Die Verantwortung hierfür obliegt allein dem Promovierenden. Das Institut für Biometrie und Klinische Epidemiologie übernimmt hierfür keine Haftung.

Datum: 01.10.2020

Name des Beraters: Dario Zocholl



Unterschrift BeraterIn, Institutsstempel


UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN
Institut für Biometrie und
Klinische Epidemiologie
Campus Charité Mitte
Charitéplatz 1 | D-10117 Berlin
Sitz: Reinhardtstr. 58