

Aus dem Institut für kardiovaskuläre Computer-assistierte Medizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Gewebe-Natrium, Adipositas und arterielle Hypertonie bei
Jugendlichen

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von Sophie Roth

aus Berlin

Datum der Promotion: 17.09.2021

Vorwort

Teilergebnisse dieser Dissertation wurden bereits in folgender Publikation vorveröffentlicht:

Roth S, Marko L, Birukov A, Hennemuth A, Kuhnen P, Jones A, Ghorbani N, Linz P, Muller DN, Wiegand S, Berger F, Kuehne T, Kelm M. Tissue Sodium Content and Arterial Hypertension in Obese Adolescents. *J Clin Med.* 2019;8(12), <https://doi.org/10.3390/jcm8122036>, Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungsverzeichnis	5
2. Zusammenfassung	6
3. Abstract.....	8
4. Aktueller Forschungsstand	9
4.1 Natriumreiche Ernährung als Faktor für Morbidität und Mortalität.....	9
4.2 ²³ Na-MRT	10
4.3 Adipositas-induzierte Erkrankungen	10
4.4 Zielsetzung.....	11
5. Methodik.....	12
5.1 Studiendesign.....	12
5.2 Datenerhebung.....	13
5.3 MRT-Bildgebung.....	14
5.4 Auswertung der MRT-Datensätze	15
5.5 Qualitätssicherung	16
5.6 Statistische Auswertung.....	16
6. Ergebnisse.....	16
6.1 Natrium-, Wasser- und Fettgehalt des Gewebes.....	17
6.2 Natrium-Gehalt und arterielle Hypertonie.....	19
6.3 Geschlechterunterschiede	19
6.4 Salzaufnahme, Gewebe-Natrium und Glukosestoffwechsel	20
7. Weiterführende wissenschaftliche Fragestellungen	20
7.1 Salz-Sensibilität der arteriellen Hypertonie.....	21
7.2 Natrium-Speicherung und Hyperinsulinismus	22
7.3 Klinischer Ausblick und Schlussfolgerungen.....	23
8. Literaturverzeichnis	24
9. Eidesstattliche Versicherung	35
9.1 Anteilserklärung an der erfolgten Publikation als Top-Journal.....	36
10. Auszug aus der Journal Summary List	38
11. Publikation.....	39

12. Lebenslauf.....	52
13. Publikationsliste.....	52
14. Danksagung	55

1. Abkürzungsverzeichnis

BMI	Body Mass Index
CVD	cardiovascular disease (kardiovaskuläre Erkrankung)
ENaC	epithelial sodium channel (epithelialer Natriumkanal)
HTN	Kohorte der hypertensiven adipösen Jugendlichen
KHK	Koronare Herzkrankheit
MRT	Magnetresonanztomografie
Na ⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid (Kochsalz)
NF- κ B	Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells
NTN	Kohorte der normotensiven adipösen Jugendlichen
OGTT	oraler Glukose-Toleranz-Test
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ROI	Region of Interest
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)

2. Zusammenfassung

Ziele: Eine tägliche Überversorgung an Natrium (Na^+) in Form von industriell verarbeiteten Lebensmitteln sowie eine hyperkalorische Ernährung kann schon frühzeitig den Grundstein legen für chronische Erkrankungen wie arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus. Angesichts der hohen Morbidität und Mortalität im Rahmen ihrer kardiovaskulären Folgeerkrankungen sollten in diesem Zusammenhang vor allem präventive Maßnahmen eine zentrale Rolle spielen. Auch wenn Na^+ als pathogenetischer Faktor bereits diskutiert wird, ist eine genaue Kausalität bisher nicht belegt. Dennoch wurden bereits Zusammenhänge zwischen Na^+ -Akkumulation im Gewebe und arterieller Hypertonie bei Erwachsenen beschrieben. Ziel dieser Arbeit war der Vergleich des Gewebe- Na^+ zwischen hypertensiven übergewichtigen, normotensiven übergewichtigen und normotensiven normalgewichtigen Jugendlichen.

Methoden: Die vorliegende Studie wurde bei 32 Jugendlichen (13-17 Jahre) durchgeführt, darunter 20 adipöse Studienteilnehmende (Body-Mass-Index, BMI, 26,4-41,0), von denen 11 hypertensiv (HTN) und 9 normotensiv (NTN) waren, sowie 12 alters- und geschlechtsgleiche Kontrollpersonen (BMI 16,8-26,2). Alle Testpersonen wurden sowohl einer ^1H - als auch einer ^{23}Na -Magnetresonanztomografie an einem in der klinischen Routine genutzten 3 Tesla-Scanner unterzogen. Dabei wurde der Na^+ -Gehalt des linken Unterschenkels mittels ^{23}Na -Spule im Musculus triceps surae, in der Haut, in der Tibia und im subkutanen Fettgewebe gemessen.

Ergebnisse: Der mediane Na^+ -Gehalt des M. triceps surae war bei HTN (11,95 mmol/L [Interquartilsabstand 11,62-13,66]) signifikant niedriger als bei NTN (13,63 mmol/L [12,97-17,64]; $p=0,043$) oder Kontrollen (15,37 mmol/L [14,12-16,08]; $p=0,012$). Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen NTN und Kontrollen gefunden. Der Na^+ -Gehalt der Haut (13,33 mmol/L [11,53-14,22]) unterschied sich nicht zwischen HTN und NTN (14,12 mmol/L [13,15-15,83]) oder Kontrollen (11,48 mmol/L [10,48-12,80]), während NTN im Vergleich zu Kontrollen höhere Werte aufwiesen ($p=0,004$). Keine der Gruppen wies signifikante Unterschiede bezüglich des Na^+ -Gehalts der Tibia oder des subkutanen Fettgewebes auf. Auch der Wassergehalt der untersuchten Kompartimente zeigte keine signifikanten Unterschiede.

Schlussfolgerungen: In der untersuchten Kohorte der adipösen Jugendlichen ging arterielle Hypertonie mit einem erniedrigten Na^+ -Gehalt des Muskels einher. Darüber hinaus wiesen NTN einen höheren Na^+ -Gehalt der Haut auf. Diese Befunde deuten auf eine frühe Fehlregulierung der Na^+ -Speicherung unabhängig von der lokalen Gewebewasserhomöostase hin. Longitudinalstudien mit einer zuverlässigen Na^+ -Bilanzierung zusätzlich zur ^{23}Na -MRT sind

erforderlich, um die Kausalität dieser Zusammenhänge zu überprüfen und die Veränderung der Na^+ -Speicherung am Übergang ins Erwachsenenalter genauer zu untersuchen.

3. Abstract

Aims: A daily overdose of sodium (Na^+) through the consumption of processed foods in as well as a hypercaloric diet may lay the foundation for chronic diseases such as arterial hypertension and diabetes mellitus even at a young age. Considering the high morbidity and mortality of their cardiovascular secondary diseases, especially preventive measures should play a central role in this context. Even though Na^+ has been discussed as a pathogenetic factor for some time, exact causality is still unknown. Nevertheless, associations between Na^+ accumulation in tissue and arterial hypertension in adults have already been described. The aim of this study was the comparison of tissue Na^+ between hypertensive obese, normotensive obese and normotensive normal weight adolescents.

Methods: This study was performed in 32 adolescents (13-17 years), including 20 obese patients (body mass index, BMI, 26.4-41.0), 11 of whom were hypertensive (HTN) and 9 of whom were normotensive (NTN), and 12 age- and sex-matched controls (BMI 16.8-26.2). All subjects underwent ^1H - as well as ^{23}Na -magnetic resonance imaging on a 3 Tesla scanner used in clinical routine diagnostics. Na^+ content of the left lower leg was measured in triceps surae muscle, skin, tibial bone and subcutaneous fat.

Results: Median Na^+ content of the triceps surae muscle was significantly lower in HTN (11.95 mmol/L [interquartile range 11.62-13.66]) than in NTN (13.63 mmol/L [12.97-17.64]; $p=0.043$) or controls (15.37 mmol/L [14.12-16.08]; $p=0.012$). No such differences were found between NTN and controls. Na^+ content of the skin (13.33 mmol/L [11.53-14.22]) did not differ between HTN and NTN (14.12 mmol/L [13.15-15.83]) or controls (11.48 mmol/L [10.48-12.80]), while in NTN higher values compared to controls were observed ($p=0.004$). None of the groups showed significant differences neither in Na^+ content of tibial bone or subcutaneous fat nor in water content of any assessed tissue.

Conclusions: In the assessed cohort of obese adolescents, arterial hypertension was associated with a reduced Na^+ content of the muscle. In addition, NTN showed an elevated Na^+ content of the skin. These outcomes indicate an early imbalance in the regulation of Na^+ homeostasis independent from local water homeostasis. Longitudinal research concepts with a reliable assessment of Na^+ ingestion and excretion in addition to ^{23}Na -MRI are necessary to examine the causality of these associations and to investigate changes of tissue Na^+ in the transition into adulthood in more detail.

4. Aktueller Forschungsstand

4.1 Natriumreiche Ernährung als Faktor für Morbidität und Mortalität

Nicht nur hochkalorische Ernährung spielt eine essentielle Rolle bei der Ätiologie der kardiovaskulärer Erkrankungen (CVD): So besteht ebenfalls ein direkter Zusammenhang zwischen hoher Natrium(Na^+)-Zufuhr und einem erhöhten Risiko für arterielle Hypertonie, Herzinfarkt, Schlaganfall oder Herzinsuffizienz (1, 2). Diese Erkrankungen gehen mit einer erhöhten Mortalität einher und bedürfen daher effektiver Präventionsmaßnahmen (1, 3, 4). In Studien an übergewichtigen Erwachsenen mit salz-induzierter Hypertonie konnte durch eine Diät mit reduzierter Na^+ -Aufnahme der Blutdruck signifikant gesenkt werden und umgekehrt (2, 5).

Somit wird Na^+ als kardiovaskulärer Risikofaktor allgemein anerkannt und die WHO empfiehlt eine tägliche Na^+ -Zufuhr von weniger als 2g/Tag (entsprechend ca. 5g NaCl pro Tag) (6). Mit einem durchschnittlichen Na^+ -Konsum von 4g/Tag weltweit und 3,5g/Tag in Deutschland bewegen sich die meisten Menschen weit über dieser Empfehlung (7).

Die pathogenetischen Mechanismen, die einem salz-sensitiven Blutdruck zugrunde liegen, sind bis heute nicht vollständig geklärt. Na^+ scheint die Aktivität des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) sowohl auf Ebene des renalen als auch nicht-renalen Gefäßsystems zu stören (8, 9) und über eine endotheliale Dysfunktion die arterielle Gefäßsteifigkeit und den renalen Gefäßwiderstand zu erhöhen (10-12). Eine Na^+ -reiche Diät vergrößert zudem das extrazelluläre Volumen und erhöht über eine Erhöhung der Herzfrequenz auch das Herzzeitvolumen. So steigt der Blutdruck bei salz-sensitiven Menschen durch eine fehlende kompensatorische Abnahme des peripheren Gefäßwiderstandes (13). Salzresistenz scheint weder eine schnellere renale Na^+ -Ausscheidung, noch eine geringere Na^+ -Aufnahme oder eine geringere Vergrößerung des extrazellulären Volumens zu bedeuten. Stattdessen liegt der Verdacht auf funktionierende Na^+ -Puffersysteme nahe, die den Einfluss von zugeführtem Na^+ reduzieren (5, 14). Aktuelle Studien zeigen eine osmotisch inaktive Speicherung von Na^+ durch Bindung an Glykosaminoglykane in der Haut (15, 16). Für eine solche Speicherung im Gewebe muss Na^+ vom Gefäßsystem ins Interstitium übertreten. Dafür werden zwei Barrieren überwunden: die anionische Glykokalix und der endotheliale Na^+ -Kanal ENaC (12, 17).

Einer steigenden Prävalenz von salz-induzierter Hypertonie im Alter oder bei chronischer Niereninsuffizienz liegt eine erniedrigte glomeruläre Filtrationsrate (GFR) zugrunde (18, 19). So muss bei gleichbleibend hoher Na^+ -Zufuhr die Na^+ -Homöostase durch eine Erhöhung der fraktionellen Na^+ -Exkretion aufrechterhalten werden. Das wird unter anderem durch erhöhte

Spiegel des Atrialen Natriuretischen Peptids (20), eine erniedrigte Aktivität des RAAS-Systems und einen erhöhten Blutdruck ermöglicht (8).

Alles in allem ist bei der Pathogenese der salz-sensitiven Hypertonie ein Zusammenspiel aus gestörter renaler Natriurese und gestörter Endothelfunktion wahrscheinlich.

Liegt eine Störung bei einem der Faktoren vor, hängt die Aufrechterhaltung des Gleichgewichts stärker von einer Kompensation durch den verbliebenen Faktor ab: So lässt sich spekulieren, ob eine unzureichende renale Exkretionsfunktion durch einen erhöhten Na^+ -Speicher im Gewebe kompensiert werden könnte. Bei einer unvollständigen Kompensation könnte dann eine Erhöhung des Blutdrucks die Folge sein.

4.2 ^{23}Na -MRT

Bisher wird der Na^+ -Status in der Routine-Diagnostik durch Messungen des Spontanurins oder des 24h-Urins erhoben. Es bleibt jedoch weiterhin unklar, ob die 24h- Na^+ -Ausscheidung über den Urin mit ihrem infradianen Rhythmus die tatsächliche Na^+ -Zufuhr ausreichend widerspiegelt und zur Messung des vergleichsweise statischen Na^+ -Speichers im Gewebe geeignet ist (21). Bekannt seit den 1980er Jahren wurde die ^{23}Na -MRT in aktuellen Studien als nicht-invasive Methode zur Messung des Na^+ -Gehalts im Gewebe in der klinische Forschung genutzt und könnte zukünftig eine zuverlässigere Alternative darstellen (22-28).

^{23}Na -MRT konnte so bereits im Rahmen anderer Studien einen erhöhten Gewebe- Na^+ -Gehalt bei verschiedensten Erkrankungen wie Lipödem (29), systemischer Sklerose (30), akuter Herzinsuffizienz (26) und Niereninsuffizienz (27, 28) nachweisen. Kopp et al. beobachteten bei erwachsenen Männern mit zunehmendem Alter eine steigende wasserunabhängige Na^+ -Speicherung im Muskel, ohne einen Anstieg des Serum- Na^+ (24). Im Gegensatz dazu ließ sich bei beiden Geschlechtern ein mit dem Alter steigender wasserabhängiger Na^+ -Gehalt in der Haut bei steigendem systolischem Blutdruck beobachten, was auf ödematös eingelagertes Na^+ hindeutet. Das Geschlecht scheint Unterschiede bei der Na^+ -Speicherung zur Folge zu haben: Frauen wiesen niedrigere Na^+ -Gehalte in der Haut auf als Männer (24). Bei refraktärer Hypertonie zeigte sich ein erhöhter Na^+ -Gehalt bei Frauen in der Haut und bei Männern im Muskel im Vergleich zur normotensiven altersentsprechenden Kontrollgruppe (24).

4.3 Adipositas-induzierte Erkrankungen

Eine steigende Prävalenz der primären arteriellen Hypertonie bei Kindern und jugendlichen ist vor allem dem Anstieg juvenilen Übergewichts und Adipositas anzulasten (31). In den letzten 40 Jahren hat sich die Zahl der Menschen, die an Übergewicht leiden, weltweit verdoppelt. In einer

Metanalyse aus über 1500 Einzelstudien stuften Ng et al. ca. 37% der Erwachsenen aus dem Jahr 2013 als übergewichtig oder adipös ein (32). Bei Kindern und Jugendlichen zwischen 2 und 19 Jahren lag die Prävalenz in Industrienationen schon bei ca. 23%, in Entwicklungsländern bei ca. 13% (32).

In Deutschland zeichnet sich ein ähnliches Bild: Mit Hilfe der erhobenen Daten der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS) aus den Jahren 2014 bis 2017 lässt sich unter Kindern und Jugendlichen im Alter von 3 bis 17 Jahren eine Prävalenz von ca. 15% für Übergewicht und von ca. 6% für Adipositas annehmen (33). Werden nun statt der Perzentilen nach Kromeyer-Hauschild die WHO-Leitlinien zur Einschätzung vorgenommen, müssen sogar 19% der 5- bis 17-Jährigen als übergewichtig und 9% als adipös klassifiziert werden (34).

Bei einer derartig weiten Verbreitung ist die Identifizierung von damit assoziierten Folgeerkrankungen von großer Bedeutung im klinischen Alltag. Sowohl Übergewicht als auch Adipositas sind im Vergleich zu Normalgewicht mit einem deutlich erhöhten Risiko für CVD wie koronare Herzkrankheit (KHK) und Schlaganfall verbunden. Auch unabhängig der drei häufigsten Risikofaktoren erhöhter Blutdruck, Glukose und Cholesteroll bleibt Adipositas ein wichtiger Risikofaktor (35).

Eine aktuelle Analyse der „Global Burden of Disease“-Studie von 2015 ergab vier Millionen Todesfälle jährlich durch Übergewicht, das entspricht ca. 7% aller Todesfälle. Mit 2,7 Millionen Todesfällen waren CVD dabei die häufigste Todesursache, gefolgt von Diabetes mellitus mit 600 000 Todesfällen, chronischer Niereninsuffizienz und Krebserkrankungen (36).

Dabei nimmt der Ernährungszustand im Kindesalter eine besondere Rolle ein: Übergewicht und Adipositas bei Jugendlichen sind im späteren Erwachsenenalter mit einem erhöhten Risiko für Diabetes mellitus Typ II, arterielle Hypertonie, Dyslipidämie, Atherosklerose der Karotiden und chronische Niereninsuffizienz assoziiert und erhöhen dadurch stark die kardiovaskuläre Mortalität durch beispielsweise KHK oder Schlaganfall (37-39). Dabei hängt die Erkrankungsdauer direkt mit dem Ausmaß der Mortalität zusammen (40).

4.4 Zielsetzung

CVD verursachen weltweit einen großen Anteil an Morbidität und Mortalität. Eine pathogenetisch interessante Rolle – insbesondere bei arterieller Hypertonie – nehmen dabei Störungen des Na^+ -Haushaltes und Übergewicht ein. Ziel dieser Arbeit war daher die Messung des Gewebe- Na^+ -Gehaltes anhand der nicht-invasiven ^{23}Na -MRT bei hypertensiven und

normotensiven adipösen Jugendlichen im Vergleich zu einer altersentsprechenden normotensiven normalgewichtigen Kontrollgruppe.

5. Methodik

5.1 Studiendesign

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin genehmigt (Genehmigungsnummer EA2/036/14) und gemäß den Prinzipien der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die schriftliche Einwilligung der Testpersonen und/oder ihrer Erziehungsberechtigten wurde vor der Teilnahme eingeholt, ebenso die Einwilligung zur Verwendung der Bilddaten in dieser Publikation.

Es wurden zwanzig bislang unbehandelte adipöse Jugendliche (im Alter von 13-17 [Median 14] Jahren) im Rahmen einer Querschnittsstudie untersucht. Aufgrund fehlender Referenzwerte des Gewebe- Na^+ wurden darüberhinaus zwölf normalgewichtige Kontrollpersonen passenden Alters und Geschlechts (im Alter von 13-16 [Median 15] Jahren) eingeschlossen.

Als adipös wurden diejenigen Testpersonen eingestuft, deren Body-Mass-Index (BMI) die alters- und geschlechtsspezifische 97. Kromeyer-Hauschild-Perzentile überschritt (41). Arterielle Hypertonie wurde bei systolischen und/oder diastolischen Werten oberhalb der alters-, geschlechts- und größenspezifischen 95. Referenzperzentile (42) diagnostiziert, da es bis heute keine allgemein anerkannte Perzentilenschwelle bei adipösen Jugendlichen gibt.

Die Gruppe der adipösen Jugendlichen wurde im Zeitraum von 2014 bis 2017 aus dem sozialpädiatrischen Zentrum der Charité-Universitätsmedizin Berlin rekrutiert und entsprechend ihres Blutdruckstatus in eine hypertensive (HTN) und eine normotensive (NTN) Untergruppe aufgeteilt (siehe Abbildung 1). Eingeschlossen wurden Betroffene zwischen 13 bis 18 Jahren (zum Zeitpunkt der Baseline-Messung), bei denen eine Adipositas nach den oben genannten Kriterien vorlag. Ausschlusskriterium waren chronische Erkrankungen, die eine stationäre Behandlung erforderlich machen, endokrine Adipositas (z.B. Glukokortikoid-induziert oder im Rahmen eines Prader-Willi-Syndroms), die Einnahme von Steroiden oder nichtsteroidalen Antiphlogistika in den vergangenen 24h vor Studiendurchführung und Allergien gegen eine der Komponenten bei der metabolischen Testung.

Die Jugendlichen der normalgewichtigen und normotensiven Kontrollgruppe entschieden sich bei einer routinemäßigen diagnostischen MRT-Untersuchung auf freiwilliger Basis dazu, das ^{23}Na -MRT-Protokoll hinzuzufügen. Bei MRT-inkompatiblen implantierten Geräten oder Klaustrophobie wurden die Testpersonen ausgeschlossen.

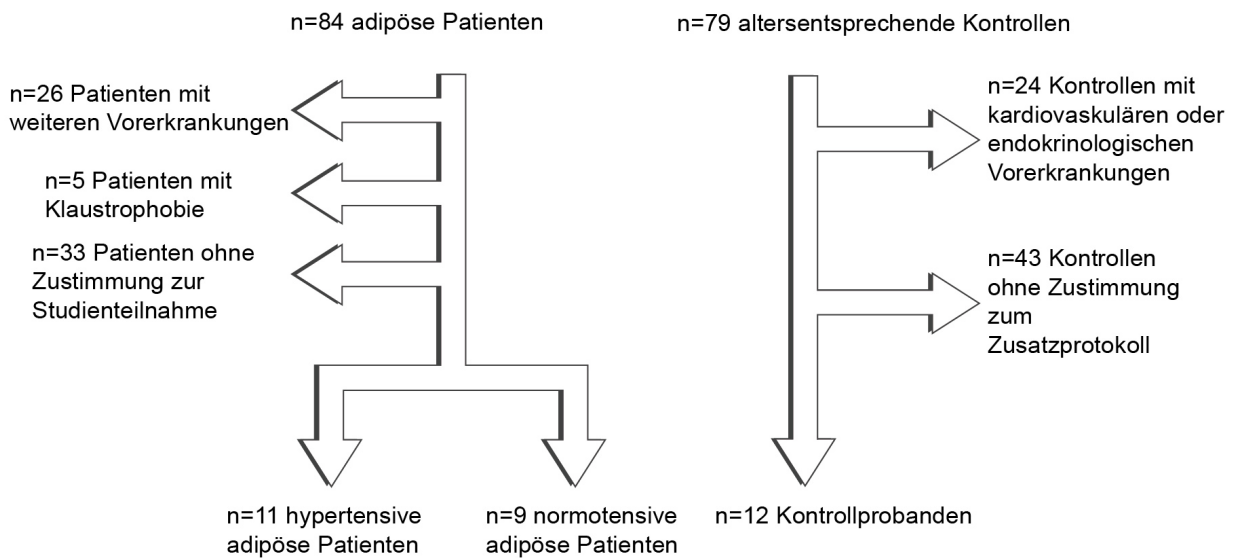


Abbildung 1: Rekrutierung der hypertensiven und normotensiven adipösen Gruppe sowie der Kontrollgruppe

5.2 Datenerhebung

Am Tag der Bildgebung wurde am rechten Oberarm der Testpersonen der arterielle Blutdruck mit einem oszillometrischen Dinamap pro-100-Gerät gemessen (Critikon, Milwaukee, WI, USA). Hierzu wurde die Manschettengröße entsprechend des Armmumfangs gewählt. Vor der Untersuchung wurde eine Ruhepause im Sitzen von mindestens fünf Minuten sichergestellt. Größe und Gewicht wurden im Rahmen der klinischen Untersuchung am Tag der ^{23}Na -MRT erfasst. Die Salzaufnahme wurde durch einen Fragebogen semiquantitativ bestimmt. Dabei wurden die Antworten auf einer Skala von 1 (stimme vollständig zu) bis 10 (stimme gar nicht zu) angegeben:

- „Wie gerne magst du/mögen Sie Salziges?“
- “Wie oft salzt du/salzen Sie ihr Essen nach?”
- „Wie gerne magst du/mögen Sie Knabbereien wie Chips, Flips, Salzbrezeln, ...?“

- „Wie oft gehst du/gehen Sie in Fastfood-Restaurants (McDonald’s, Burger King, KFC, Imbiss, ...) essen?“
- „Wie viel Geld gibst du/geben Sie durchschnittlich bei einem Besuch aus?“ (€)
- „Wie oft trinkst du/trinken Sie Mineralwasser ohne zusätzliche Geschmacksstoffe?“
- “Wie viel trinkst du/trinken Sie am Tag ungefähr?“ (L)

Darüberhinaus wurde HbA1c, Nüchtern-Insulin und Nüchtern-Glukose gemessen und ein oraler Glukose-Toleranztest (OGTT) durchgeführt. Von einem Hyperinsulinismus wurde ab Homeostatic model assessment (HOMA) Indizes über 2,0 ausgegangen.

5.3 MRT-Bildgebung

Üblicherweise wird in der klinischen Routine die ^1H -MRT aufgrund der Eigenschaften des Wasserstoffkerns ^1H mit seiner ungeraden Nukleonenzahl genutzt.

Jeder Atomkern dreht sich mit seinem sogenannten Kernspin um die eigene Achse und induziert dabei ein Magnetfeld. Bei ungeordneten Magnetfeldern, so wie sie im menschlichen Körper vorliegen, kommt es zur wechselseitigen Kompensation. Ein äußeres Magnetfeld kann die einzelnen Dipole antiparallel oder -energetisch günstiger- parallel ausrichten. Dadurch lässt sich eine Magnetisierung entlang der Längsachse messen. Durch einen Hochfrequenzimpuls können die Atomkerne angeregt werden. Sobald der Impuls wegfällt, wird die aufgenommene Energie als magnetischer Impuls wieder frei. Dieser Impuls wird für die MRT gemessen (43).

^{23}Na besitzt nach ^1H die günstigsten Eigenschaften für die MRT und die höchste Konzentration in vivo. Nichtsdestotrotz kann diese in absolutem Maßstab geringe Konzentration ausschließlich mit sehr sensitiven Spulen erfasst werden. So ergibt sich ein niedriges Signal-zu-Rauschen-Verhältnis (SNR), dem nur mit speziell eingestellten Sender/Empfänger-Spulen und Sequenzen begegnet werden kann (44).

Die Bildgebung wurde auf einem Philips Ingenia 3.0 Tesla MR-Scanner (Ingenia R 5.4, Philips Healthcare, Best, Niederlande) mit einer ^{23}Na Sende-/Empfangs-Spule des Knies (Rapid Biomedical, Rimpar, Deutschland) mit einer 2D-spoiled Gradienten-Echosequenz durchgeführt (Gesamtaufnahmezeit, time of acquisition TA = 20,5 min; Echozeit, time of echo TE = 2,138 ms; Wiederholungszeit, time of repetition TR = 100 ms; Anregungswinkel, flip angle FA = 90; 196 Mittelwerte, Auflösung: $3 \times 3 \times 30 \text{ mm}^3$) (26). Vier Kalibrierungsphantome mit Kochsalzlösungen unterschiedlicher Konzentrationen zwischen 10 und 40 mmol/L wurden als Referenzstandards bei jeder MRT-Sequenz zusammen mit dem Unterschenkel der Testperson gescannt.

Gleichzeitig wurde der Wassergehalt des Gewebes mittels ^1H -MRT unter Verwendung einer fettgesättigten Spin-Echo-Sequenz mit Inversion Recovery gemessen (Inversionszeit, TI = 210 ms; TA = 6,27 min; TE = 12 ms; TR = 3000 ms; FA = 90; 1 Mittelwert, Auflösung: 1,5 x 1,5 x 5 mm³). Dabei wurden bereits validierte und publizierte Methoden angewandt (26). Bei allen Testpersonen wurde die Bildgebung nach einer Ruhezeit von 15 Minuten durchgeführt.

5.4 Auswertung der MRT-Datensätze

Unter Verwendung von ImageJ (Version 1.50i, NIH, Bethesda, MD, USA) wurden die ROIs (Regions of Interest) so zentral wie möglich gezeichnet. Der anatomische Bildsatz (T1-weighted spoiled gradient echo sequence) diente dabei als Orientierungshilfe. Na⁺-reiche Gefäßstrukturen wurden nach Möglichkeit ausgeschlossen. Die ROIs umfassten Bereiche, die bereits in anderen Studien etabliert wurden: den Musculus triceps surae als größten Muskel der Wade (mit M. gastrocnemius lateralis und medialis und M. soleus; im Folgenden als "Muskel" bezeichnet), die Haut und die Tibia sowie das subkutane Fettgewebe. Letztere wurde von uns aufgrund der besonderen Zusammensetzung unserer erkrankten Kohorte hinzugefügt: Da sich bei Adipositas das subkutane Fettgewebe stark vergrößert, sollten etwaige Na⁺-Verschiebungen dorthin dokumentiert werden. ROIs des Muskels und des subkutanen Fettgewebes wurden auf der T1-gewichteten Sequenz markiert, während ROIs der Haut, ROIs des gesamten Beins und ROIs der Phantomröhrchen auf dem Na⁺-Bild gezeichnet wurden, wie bereits von anderen Autoren beschrieben (26). Die ROI-Flächen wurden anhand der Voxelzahl jeder ROI beurteilt und in mm² umgerechnet.

Mit Hilfe linearer Trendanalysen wurden die gemessenen Signalintensitäten der ROIs anhand der vordefinierten Konzentrationen der Kalibrierungsphantome in die entsprechende Na⁺-Gehalte umgerechnet (45). Durch die lineare Beziehung zwischen ^1H -MRT-Messungen und dem tatsächlichen Wassergehalt im Gewebe ist ^1H -MRT als Mittel zur nicht-invasiven Beurteilung von Veränderungen des Gewebewassergehalts optimal geeignet (24). So kann wasserunabhängige Na⁺-Speicherung (z.B. Mucopolysaccharid-gebunden) von wasserabhängiger Na⁺-Speicherung (z.B. in Form von Ödemen) durch die gemeinsame Interpretation der ^{23}Na - und ^1H -Bildsätze unterschieden werden (46).

Fettgewebe weist einen eher geringen Na⁺-Gehalt auf. Um auszuschließen, dass einem verminderten Na⁺-Gehalt im Muskel lediglich eine erhöhte Fettansammlung im Muskel zugrunde liegt, wurde der muskuläre Fettanteil geprüft. Dazu wurde das Verhältnis zwischen den Fettvoxeln und der Gesamtzahl der Voxel im Muskel erhoben. ^1H -T1-gewichtete Signalintensitäten mehr als 30% über dem Intensitätsniveau der Kalibrierungsröhrchen wurden

dabei als solche "Fettvoxel" definiert, so wie bereits in der Literatur von Kopp et al. beschrieben (47).

5.5 Qualitätssicherung

Zur Qualitätssicherung und Bewertung der Reproduzierbarkeit der Auswertung der Datensätze wurden die ²³Na-MRT-Datensätze von 25 Testpersonen von einer zweiten verblindeten Person ein weiteres Mal unabhängig ausgemessen. Dabei wurde die Inter-Beobachter-Variabilität mit Hilfe eines Bland-Altman-Plots ausgewertet.

5.6 Statistische Auswertung

Zur Überprüfung auf Normalverteilung wurden bei kontinuierlichen Daten Shapiro-Wilk- und Shapiro-Francia-Tests verwendet. Aufgrund fehlender Normalverteilung wurde der Median mit seinem Interquartilsabstand zur Darstellung verwendet. Auf stochastische Dominanz zwischen den drei Gruppen wurde mit nicht-parametrischen Kruskal-Wallis-Tests geprüft. Zur Einzeltestung der statistischen Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurde der nicht-parametrische Dunns Post-Hoc-Test mit Bonferroni-Korrektur verwendet, um eine Alphafehler-Kumulierung durch Mehrfachtestung zu verhindern. Zum Vergleich kategorialer Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test von Pearson mit dem exakten Fisher-Test eingesetzt. Zur Darstellung der kombinierten Auswirkungen von BMI und Bluthochdruck auf den Na⁺-Gehalt im Muskel wurden geschätzte Randmittel (englisch: sogenannte predictive margins) berechnet und aufgetragen. Nicht-parametrische multivariate Regressionsanalysen wurden zur Bewertung der Korrelationen kontinuierlicher Daten verwendet. Mögliche multifaktorielle Effekte (und ihr 95%-Konfidenzintervall, CI) wurden mittels robuster Regression bestimmt. Logistische Regressionsmodelle wurden zur Bewertung der Korrelationen kategorialer Daten verwendet. Das Signifikanzniveau wurde bei $p=0,05$ gesetzt. Für die statistische Analyse wurde Stata (Version 15.1, StataCorp, College Station, Texas, USA) verwendet.

6. Ergebnisse

Die Gesamtheit der 32 Testpersonen wurde auf drei Gruppen aufgeteilt: elf hypertensive adipöse (HTN), neun normotensive adipöse (NTN) und zwölf normalgewichtige normotensive Jugendliche als Kontrollgruppe.

Zwischen den Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich BMI, Geschlechter- und Altersverteilung (siehe Tabelle 1). Bezüglich Herzfrequenz, systolischem und diastolischem

Blutdruck unterschied sich die Gruppe der NTN nicht von der Kontrollgruppe, es gab lediglich signifikante Unterschiede zwischen den beiden genannten Gruppen und HTN.

Tabelle 1. Charakteristika der Testpersonen (Median (Q1-Q3))*

Parameter	Kontrollen (n=12)	NTN (n=9)	HTN (n=11)	p-Wert NTN vs. Kontrollen	p-Wert HTN vs. Kontrollen	p-Wert HNT vs. NTN	p-Wert gesamt
Alter [Jahre]	15 [14-16]	15 [14-16]	14 [13-14]	1,000	0,088	0,060	0,072
männliches Geschlecht [n]	4 (33%)	4 (44%)	5 (45%)				0,808
BMI [kg/m ²]	19,0 [18,7-21,8]	33,9 [32,5-35,7]	33,1 [30,5-36,3]	<0,001	<0,001	1,000	<0,001
Herzfrequenz [bpm]	69 [64-74]	68 [60-76]	84 [72-87]	1,000	0,024	0,075	0,036
systolischer Blutdruck [mmHg]	104 [90-111]	119 [111-124]	145 [136-148]	0,230	<0,001	0,001	<0,001
diastolischer Blutdruck [mmHg]	54 [50-59]	56 [55-62]	72 [64-81]	0,334	<0,001	0,015	0,0002
Gesamtfläche Unterschenkel im Querschnitt [mm ²]	8618 [7956-9871]	15441 [13314-16298]	13302 [11739-14331]	<0,001	0,0007	0,533	<0,001
Fläche Tibia [mm ²]	516 [469-548]	699 [551-724]	640 [506-713]	0,011	0,117	0,478	0,022
Gesamtfläche Muskel [mm ²]	5097 [4476-5584]	7190 [6256-8022]	6659 [6188-7599]	0,002	0,003	1,000	0,001
Fläche subkutanes Fettgewebe [mm ²]	2440 [2137-3066]	5683 [4676-8520]	4788 [4103-6613]	<0,001	0,001	0,758	<0,001

6.1 Natrium-, Wasser- und Fettgehalt des Gewebes

Der Na⁺-und Wassergehalt des Gewebes konnte bei allen 32 Testpersonen analysiert werden. Keine der Gruppen wies signifikante Unterschiede bezüglich des Na⁺-Gehalts der Tibia auf (p=0,315) (siehe Abb. 2.3A). Der Na⁺-Gehalt des Muskels lag bei HTN mit einem Median von 11,95 mmol/L [Interquartilsabstand 11,62 mmol/L-13,66 mmol/L] signifikant niedriger als bei NTN mit 13,63 mmol/L [12,97 mmol/L-17,64 mmol/L] (p=0,043) und Kontrollen mit 15,37 mmol/L [14,12 mmol/L-16,08 mmol/L] (p=0,012). Er wies jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen NTN und Kontrollen auf (p=1,000) (siehe Abb. 2.1A). Anhand eines

* modifiziert nach „Table 1: Baseline characteristics. Median (interquartile range), unless stated otherwise.“ <https://www.mdpi.com/2077-0383/8/12/2036/htm#> der Publikation Roth et al., Tissue Sodium Content and Arterial Hypertension in Obese Adolescents, Journal of Clinical Medicine, 21 Nov 2019 (48). Diese Tabelle unterliegt dem Urheberrecht und ist unter der Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Bland-Altman-Plots wurde eine geringe Inter-Beobachter-Variabilität des Na⁺-Gehalts im Muskel nachgewiesen.

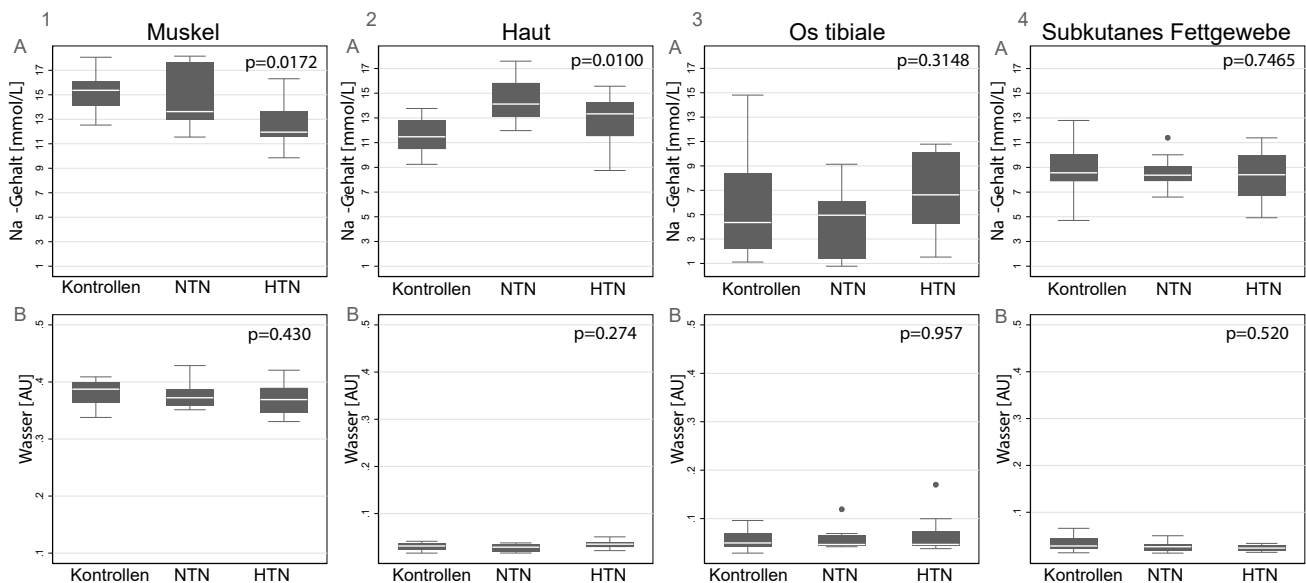


Abbildung 2: Na⁺- und Wassergehalte der Gewebe[†]

2.1A Na⁺-Gehalt des Muskels, **1B** Wassergehalt des Muskels,

2.2A Na⁺-Gehalt der Haut, **2B** Wassergehalt der Haut,

2.3A Na⁺-Gehalt der Tibia, **3B** Wassergehalt der Tibia,

2.4A Na⁺-Gehalt des subkutanen Fettgewebes, **4B** Wassergehalt des subkutanen Fettgewebes

Keine der Gruppen wies signifikante Unterschiede bezüglich des Na⁺-Gehalts des subkutanen Fettgewebes auf ($p=0,747$) (siehe Abb. 2.4A). Im Gegensatz dazu lag der Na⁺-Gehalt der Haut bei NTN mit 14,12 mmol/L [13,15 mmol/L-15,83 mmol/L] signifikant höher als bei den Kontrollen mit 11,48 mmol/L [10,48 mmol/L-12,80 mmol/L] ($p=0,004$), während er bei HTN mit 13,33 mmol/L [11,53 mmol/L-14,22 mmol/L] im Vergleich lediglich tendenziell höher lag ($p=0,144$). HTN und NTN zeigten keinen signifikanten Unterschied ($p=0,237$) (siehe Abb. 2.2A). Der Na⁺-Gehalt des gesamten Unterschenkels im Querschnitt war bei HTN mit 12,01 mmol/L [11,41 mmol/L-12,89 mmol/L] signifikant niedriger als bei NTN (13,02 mmol/L [12,39

[†] modifiziert nach „Supplementary Figure 1: Boxplots of Na⁺ and water content of controls, normotensive obese and hypertensive obese in different tissues. Overall p-values according to Kruskal-Wallis test.“ <https://www.mdpi.com/2077-0383/8/12/2036/s1> der Publikation Roth et al., Tissue Sodium Content and Arterial Hypertension in Obese Adolescents, Journal of Clinical Medicine, 21 Nov 2019, <https://www.mdpi.com/2077-0383/8/12/2036/htm#> (48). Diese Tabelle unterliegt dem Urheberrecht und ist unter der Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

mmol/L–14,98 mmol/L]; $p=0,045$) und Kontrollen (15,15 mmol/L [12,07 mmol/L–15,69 mmol/L; $p=0,005$]). Der Gesamt- Na^+ -Gehalt unterschied sich nicht signifikant zwischen NTN und Kontrollen ($p=0,866$).

Der Wassergehalt in Tibia, Muskel, subkutanem Fett und Haut unterschied sich nicht zwischen den Gruppen (siehe Abb. 2.1-4B). Auch der Fettgehalt des Muskels variierte zwischen keiner der drei Gruppen. Es konnte keine signifikante Korrelation ($p=0,149$) zwischen der Fläche des Fettgewebes und dem Na^+ -Gehalt des Muskels gezeigt werden.

6.2 Natrium-Gehalt und arterielle Hypertonie

Zwischen dem Na^+ -Gehalt im Muskel ($p=0,0025$; $R^2=0,27$) und dem systolischen Blutdruck konnte eine inverse Korrelation gefunden werden. Diese Effekte stellten sich BMI-unabhängig dar. Zwischen dem Na^+ -Gehalt in der Haut und dem systolischen Blutdruck konnte dagegen keine signifikante Korrelation gefunden werden. Auch wurden weder zwischen dem Na^+ -Gehalt im Muskel noch dem Na^+ -Gehalt im gesamten Unterschenkel-Querschnitt und dem BMI signifikante Korrelationen bei adipösen Jugendlichen gefunden.

Da mehrere Studien nicht nur einen Zusammenhang zwischen arterieller Hypertonie und Na^+ -Gehalt, sondern auch einer Zunahme der Herzfrequenz bei adipösen Versuchspersonen beschreiben (24, 49), wurden auch die Herzfrequenzen der verschiedenen Gruppen in der vorliegenden Studie verglichen. Die Herzfrequenz bei HTN (84 bpm [72 bpm–87 bpm]) lag signifikant höher als bei NTN (68 bpm [60 bpm–76 bpm]; $p=0,025$) und den Kontrollen (69 bpm [64 bpm–74 bpm]; $p=0,008$). Zwischen NTN und Kontrollen zeigten sich keine Unterschiede bezüglich der Herzfrequenz ($p=0,386$).

In den adipösen Gruppen konnte ein logistisches Regressionsmodell zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Hypertonie signifikant mit einem geringeren Na^+ -Gehalt im Muskel einherging ($p=0,038$). Das Risiko für arteriellen Bluthochdruck war bei Testpersonen mit einem Na^+ -Gehalt des Muskels von weniger als 12 mmol/L auf über 80% erhöht.

6.3 Geschlechterunterschiede

Der Na^+ -Gehalt der Tibia war bei adipösen Männern signifikant höher (7,45 mmol/L [6.10 mmol/L–9.14 mmol/L]; $p=0,025$) als bei adipösen Frauen (4,71 mmol/L [1.38 mmol/L–6.63 mmol/L]). Eine robuste lineare Regression konnte eine Assoziation ($p=0,023$; $R^2=0,25$) zwischen dem Na^+ -Gehalt der Tibia und der unabhängigen Variablen [1] des weiblichen

Geschlechts (Coef. -3,20, 95% CI -5,85 bis -0,55, $p=0,020$), aber nicht [2] NTN ($p=0,389$) oder [3] HTN ($p=0,624$) aufdecken.

Für den Na^+ -Gehalt des Muskels wurden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede gefunden, alle Zusammenhänge zwischen arterieller Hypertonie und Na^+ -Gehalt des Muskels zeigten sich geschlechtsunabhängig.

Eine robuste lineare Regression konnte eine Assoziation ($p<0,001$; $R^2=0,40$) zwischen dem Na^+ -Gehalt der Haut und den unabhängigen Variablen [1] des weiblichen Geschlechts (Coef. -1,31 95% CI -2,52 bis -0,10, $p=0,034$) und [2] NTN (Coef. 2,69 95% CI 1,20 bis 4,19, $p=0,001$), zeigen.

Im subkutanen Fettgewebe wurden keine geschlechtsspezifischen Unterschiede des Na^+ -Gehalts gefunden. Alle Zusammenhänge zwischen arterieller Hypertonie und Na^+ -Gehalt des gesamten Unterschenkel-Querschnitts zeigten sich geschlechtsunabhängig.

6.4 Salzaufnahme, Gewebe-Natrium und Glukosestoffwechsel

Bezüglich der Antworten auf die Elemente des Fragebogens konnten keine Unterschiede zwischen den Gruppen hinsichtlich der Salzaufnahme gefunden werden. Bei 87% aller adipösen Jugendlichen konnte ein Hyperinsulinismus festgestellt werden. Darüberhinaus konnte eine Korrelation zwischen dem Na^+ -Gehalt des Unterschenkel-Querschnitts und der Serumglukose nach 1 h ($p=0,034$; $R^2=0,63$; $n=11$) nachgewiesen werden, jedoch keine signifikante Korrelation nach 2 h ($p=0,084$) oder zwischen HbA1c und systolischem Blutdruck ($p=0,088$). Bei anderen Gewebekompartimenten konnten keine Korrelationen beobachtet werden.

7. Weiterführende wissenschaftliche Fragestellungen

Na^+ -Messungen des Gewebes konnten sich in der Vergangenheit aufgrund ihres invasiven Charakters in Form von Atomabsorptionsspektroskopie nicht durchsetzen, da hierbei die Einäscherung des zu untersuchenden Gewebes unvermeidbar ist (23).

^{23}Na -MRT bietet eine nicht-invasive Alternative zur Messung des Gewebe- Na^+ im Kontext verschiedenster Pathologien insbesondere der CVD, bei denen Na^+ eine pathogenetische Rolle zu spielen scheint.

In unserer Studie konnte bei hypertensiven adipösen Jugendlichen ein niedrigerer Na^+ -Gehalt des Muskels als bei normotensiven adipösen Jugendlichen oder Kontrollen gezeigt werden. Bei hypertensiven Erwachsenen hingegen konnten Kopp et al. in ihrer Studie einen erhöhten Na^+ -Gehalt des Gewebes zeigen, sodass bisher eine vermehrte Na^+ -Speicherung als pathogenetischer

Faktor der arteriellen Hypertonie diskutiert wurde (24). In der genannten Studie spielte jedoch das Gewicht der untersuchten Testpersonen keine Rolle, sodass es noch keine Ergebnisse eines Studienkonzepts bei Erwachsenen gibt, das mit unserem vergleichbar wäre. Inwieweit die Na^+ -Speicherung im Gewebe bei hypertensiven und normotensiven Erwachsenen mechanistisch mit Altersprozessen und Adipositas verbunden ist, sollte daher bei zukünftigen Studien genauer untersucht werden.

7.1 Salz-Sensibilität der arteriellen Hypertonie

Die Ergebnisse des semiquantitativen Salzfragebogens zeigen eine vergleichbare Na^+ -Zufuhr unserer drei Kohorten. In Salzbelastungsstudien konnte gezeigt werden, dass es bei normotensiven salzresistenten Erwachsenen unter Salzbelastung weder zu einer schnelleren Na^+ -Ausscheidung noch zu einer stärkeren Ausdehnung des Blutvolumens kommt (5, 14). Unsere Studie dient als weiterer Hinweis auf ein solches physiologisches Na^+ -Puffersystem, das bei gleicher Na^+ -Zufuhr eine unterschiedlich ausgeprägte Beeinträchtigung der Endorgane zu bewirken scheint. Klinische Relevanz erlangt dieses Erkenntnis bei der diätetischen Therapie der arteriellen Hypertonie: Nicht alle Erkrankten könnten somit von einer Einschränkung der Salzaufnahme profitieren.

Vielmehr scheinen Störungen der Na^+ -Puffermechanismen beim Ausbruch der arteriellen Hypertonie eine zentrale Rolle zu spielen. Während sich in unserer Studie bei NTN die Na^+ -Speicherung im Muskel lediglich geringfügig reduziert zeigte, ließ sich dort bei HTN eine signifikante Reduktion der Na^+ -Speicherung beobachten. Da ein Anstieg der Na^+ -Speicherung in benachbarten Kompartimenten wie Haut, Tibia und subkutanem Fettgewebe bei HTN fehlte, darf eine mögliche Na^+ -Verschiebung dorthin ausgeschlossen werden.

Auf den ersten Blick konträr zu unseren Ergebnissen erscheint das Konzept der Salzsensibilität: Hier kommt es als Reaktion auf eine erhöhte Na^+ -Aufnahme zu einer Erhöhung des Blutdruckes (2, 5). In diesem Kontext scheinen sowohl eine veränderte Suppression des RAAS und damit des Sympathikus wie auch die Drucknatriuresis durch den erhöhten Blutdruck selbst wichtige Faktoren zu sein. Erhöhte Herzfrequenzen wie bei HTN in unserer Studie sind Ausdruck einer solchen Überaktivierung des Sympathikus, die eine wesentliche Rolle bei der Pathogenese von Adipositas-induzierter Hypertonie spielt (50, 51). Nichtsdestotrotz könnte auch bei der salzsensiblen Hypertonie das beschriebene Na^+ -Puffersystem eine Rolle spielen. So scheint es bei hypertensiven Erwachsenen für eine erhöhte osmotisch inaktive Na^+ -Speicherung zu sorgen (46), während seine Fehlfunktion bei hypertensiven adipösen Jugendlichen einen pathogenetischen Faktor darstellen könnte. Bisher konnte diese Frage jedoch nicht geklärt werden. Mit den

Ergebnissen unserer Studie darf nun über Unterschiede der Regulationsmechanismen der Na^+ -Speicherung und des Blutdrucks bei Jugendlichen im Vergleich zu Erwachsenen spekuliert werden. Daraus ergeben sich womöglich neue, individualisierte therapeutische Ansätze für juvenile arterielle Hypertonie bei Adipositas.

Findet die Na^+ -Speicherung in Haut und Muskel bei Jugendlichen in geringerem Maß statt als bei Erwachsenen, könnte eine Aufrechterhaltung der Na^+ -Speicherungskapazität stärker von der Natriurese abhängig sein. Dies könnte einen Kompensationsmechanismus in einem frühen Stadium der Krankheitsprävention widerspiegeln. Weitere Forschung wird erforderlich sein, um die beteiligten Hormonkaskaden sowie die tatsächliche Natriurese zu untersuchen und einen möglichen pathogenetischen Unterschied zwischen arterieller Hypertonie bei Jugendlichen und Erwachsenen zu klären. In diesem Kontext sind für eine exakte Messung der tatsächlichen Salzzufuhr komplexe ernährungswissenschaftliche Studien vonnöten. Gerade Studienkonzepte mit Versuchspersonen, die einen Defekt beteiligter Hormonkaskaden wie eine Defizienz des Pro-opiomelanocortin oder des Melanocortin-4-Rezeptors aufweisen, könnten sehr gut zur Erforschung detaillierter Zusammenhänge geeignet sein, da diese Faktoren bei der Regulation des Sättigungsgefühls, aber auch des arteriellen Blutdruckes eine Rolle spielen.

7.2 Natrium-Speicherung und Hyperinsulinismus

Die Mehrheit (87,5%) unserer beiden adipösen Gruppen wies Hyperinsulinismus auf. Ein Zusammenhang zwischen Adipositas und einer Insulinresistenz ist bereits bekannt. In einer Studie an elf Hämodialyse-Patient*Innen konnten Deger et al. einen erhöhten Na^+ -Gehalt des Muskels bei Insulinresistenz beobachten (52). Eine andere kürzlich durchgeführte Studie konnte einen Zusammenhang zwischen Na^+ -Aufnahme und Insulinresistenz bei adipösen Kindern und Jugendlichen zeigen (53). Nun konnten Zhou et al. in Tierversuchen an salzempfindlichen, hypertensiven Dahl-Ratten erstmals eine Erhöhung des Angiotensin II zeigen. Angiotensin II aktiviert den inflammatorischen Signalweg des „Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells“ (NF- κ B) und führt bei Überaktivierung zu systemischer Insulinresistenz (54). Somit scheint es bei Erwachsenen einen direkten Zusammenhang zwischen einer Erhöhung des Na^+ und einer Insulinresistenz zu geben. In unserer Studie konnte eine negative Korrelation zwischen dem Na^+ -Gehalt des Unterschenkel-Querschnitts und der Serumglukose nach einer Stunde OGTT nachgewiesen werden. Dies deutet einmal mehr auf eine Dysregulation des Na^+ -Puffersystems bei jungen Erkrankten und suggeriert somit eine ungepufferte Beeinträchtigung der Endorgane durch Na^+ in diesem frühen Krankheitsstadium.

Auch hier sind tiefergehende longitudinale interventionelle Studien nötig, um die pathogenetischen Unterschiede zwischen Jugendlichen und Erwachsenen zu klären und so individualisierte Behandlungskonzepte entwerfen zu können.

7.3 Klinischer Ausblick und Schlussfolgerungen

Bei adipösen Jugendlichen ist die arterielle Hypertonie mit einem niedrigen Na^+ -Gehalt des Muskels assoziiert, dabei scheint das genaue Ausmaß des BMI keine Rolle zu spielen. Diese Befunde deuten auf Unterschiede bei der Regulierung der Na^+ -Speicherung des Muskels zwischen jugendlichen hypertensiven Adipositas-Erkrankten und normotensiven Adipositas-Erkrankten hin und steuern so eine ganz neue Perspektive auf salzinduzierte Hypertonie, Salzsensibilität und Insulinresistenz bei.

Nun sollten longitudinale Studien mit Salzbelastungsprotokollen, Messungen des RAAS und der Na^+ -Ausscheidung zur genauen Quantifizierung der Na^+ -Speicherung und dem Zusammenspiel ihrer Hormonachsen folgen. Auch der Zusammenhang mit Entzündungskaskaden und dem Glukose-/Insulin-Stoffwechsel bleibt ein wichtiges Forschungsfeld für zukünftige Behandlungsstrategien.

Unsere Studie wirft interessante Fragen auf. Sie zeigt eine zukünftig mögliche klinische Relevanz der ^{23}Na -MRT als nicht-invasive Methode zur Messung von Na^+ . Gerade im Zusammenhang mit Erkrankungen von hoher Prävalenz wie CVD könnte sie somit als Screening für frühe kardiovaskuläre Risikofaktoren eingesetzt werden, sodass damit präventive Maßnahmen individualisiert entwickelt werden könnten. Auch als Verlaufs- und Therapiekontrolle bei hypertensiver Adipositas bietet sich die ^{23}Na -MRT in ferner Zukunft an.

Für solch einen klinischen Einsatz ist vorerst weitere Forschung nötig: Es sollten grundlegende Unterschiede im Hinblick auf Adipositas und arterielle Hypertonie zwischen erwachsenen und jugendlichen Betroffenen geklärt und Referenzwerte definiert werden.

8. Literaturverzeichnis

1. Mills KT, Chen J, Yang W, Appel LJ, Kusek JW, Alper A, Delafontaine P, Keane MG, Mohler E, Ojo A, Rahman M, Ricardo AC, Soliman EZ, Steigerwalt S, Townsend R, He J, Investigators for CRICS. Sodium Excretion and the Risk of Cardiovascular Disease in Patients With Chronic Kidney Disease. *JAMA*. 2016;315(20):2200-10.
2. Gay HC, Rao SG, Vaccarino V, Ali MK. Effects of Different Dietary Interventions on Blood Pressure. *Hypertension*. 2016;67(4):733-9.
3. Cook NR, Appel LJ, Whelton PK. Sodium Intake and All-Cause Mortality Over 20 Years in the Trials of Hypertension Prevention. *Journal of the American College of Cardiology*. 2016;68(15):1609-17.
4. Collaborators TGRF. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet (London, England)*. 2018;392(10159):1923-94.
5. Rakova N, Juttner K, Dahlmann A, Schroder A, Linz P, Kopp C, Rauh M, Goller U, Beck L, Agureev A, Vassilieva G, Lenkova L, Johannes B, Wabel P, Moissl U, Vienken J, Gerzer R, Eckardt KU, Muller 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.
6. WHO. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. Guideline: Sodium Intake for Adults and Children. Geneva: World Health Organization; 2012.
7. 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.
8. Cugini P, Lucia P, Di Palma L, Re M, Canova R, Gasbarrone L, Cianetti A. Effect of aging on circadian rhythm of atrial natriuretic peptide, plasma renin activity, and plasma aldosterone. *Journal of gerontology*. 1992;47(6):B214-9.
9. Crowley SD, Gurley SB, Oliverio MI, Pazmino AK, Griffiths R, Flannery PJ, Spurney RF, Kim H-S, Smithies O, Le TH, Coffman TM. Distinct roles for the kidney and systemic tissues in blood pressure regulation by the renin-angiotensin system. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(4):1092-9.

10. Campino C, Baudrand R, Valdivia CA, Carvajal C, Vecchiola A, Tapia-Castillo A, Martínez-Aguayo A, Garcia H, García L, Allende F, Solari S, Fuentes CA, Lagos CF, Rojas MP, Muñoz D, Fardella CE. Sodium Intake Is associated With Endothelial Damage Biomarkers and Metabolic Dysregulation. *American journal of hypertension*. 2018;31(10):1127-32.
11. Gates PE, Tanaka H, Hiatt WR, Seals DR. Dietary sodium restriction rapidly improves large elastic artery compliance in older adults with systolic hypertension. *Hypertension*. 2004;44(1):35-41.
12. Oberleithner H, Peters W, Kusche-Vihrog K, Korte S, Schillers H, Kliche K, Oberleithner K. Salt overload damages the glycocalyx sodium barrier of vascular endothelium. *Pflugers Arch*. 2011;462(4):519-28.
13. Schmidlin O, Sebastian AFA, Morris RC, Jr. What initiates the pressor effect of salt in salt-sensitive humans? Observations in normotensive blacks. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)*. 2007;49(5):1032-9.
14. Kurtz TW, DiCarlo SE, Pravenec M, Schmidlin O, Tanaka M, Morris RC, Jr. An alternative hypothesis to the widely held view that renal excretion of sodium accounts for resistance to salt-induced hypertension. *Kidney international*. 2016;90(5):965-73.
15. 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. *American journal of physiology Renal physiology*. 2005;289(4):F793-802.
16. Titze J, Maillet 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.
17. Kusche-Vihrog K, Sobczak K, Bangel N, Wilhelmi M, Nechyporuk-Zloy V, Schwab A, Schillers H, Oberleithner H. Aldosterone and amiloride alter ENaC abundance in vascular endothelium. *Pflugers Arch*. 2008;455(5):849-57.
18. Luft FC, Weinberger MH, Fineberg NS, Miller JZ, Grim CE. Effects of age on renal sodium homeostasis and its relevance to sodium sensitivity. *The American Journal of Medicine*. 1987;82(1):9-15.
19. Zhang QL, Rothenbacher D. Prevalence of chronic kidney disease in population-based studies: systematic review. *BMC public health*. 2008;8:117.
20. Roth GA, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, Abbastabar H, Abd-Allah F, Abdela J, Abdelalim A, Abdollahpour I, Abdulkader RS, Abebe HT, Abebe M, Abebe Z, Abejie AN, Abera SF, Abil OZ, Abraha HN, Abrham AR, Abu-Raddad LJ, Accrombessi

MMK, Acharya D, Adamu AA, Adebayo OM, Adedoyin RA, Adekanmbi V, Adetokunboh OO, Adhena BM, Adib MG, Admasie A, Afshin A, Agarwal G, Agesa KM, Agrawal A, Agrawal S, Ahmadi A, Ahmadi M, Ahmed MB, Ahmed S, Aichour AN, Aichour I, Aichour MTE, Akbari ME, Akinyemi RO, Akseer N, Al-Aly Z, Al-Eyadhy A, Al-Raddadi RM, Alahdab F, Alam K, Alam T, Alebel A, Alene KA, Alijanzadeh M, Alizadeh-Navaei R, Aljunid SM, Alkerwi Aa, Alla F, Allebeck P, Alonso J, Altirkawi K, Alvis-Guzman N, Amare AT, Aminde LN, Amini E, Ammar W, Amoako YA, Anber NH, Andrei CL, Androudi S, Animut MD, Anjomshoa M, Ansari H, Ansha MG, Antonio CAT, Anwari P, Aremu O, Ärnlov J, Arora A, Arora M, Artaman A, Aryal KK, Asayesh H, Asfaw ET, Ataro Z, Atique S, Atre SR, Ausloos M, Avokpaho EFGA, Awasthi A, Quintanilla BPA, Ayele Y, Ayer R, Azzopardi PS, Babazadeh A, Bacha U, Badali H, Badawi A, Bali AG, Ballesteros KE, Banach M, Banerjee K, Bannick MS, Banoub JAM, Barboza MA, Barker-Collo SL, Bärnighausen TW, Barquera S, Barrero LH, Bassat Q, Basu S, Baune BT, Baynes HW, Bazargan-Hejazi S, Bedi N, Beghi E, Behzadifar M, Behzadifar M, Béjot Y, Bekele BB, Belachew AB, Belay E, Belay YA, Bell ML, Bello AK, Bennett DA, Bensenor IM, Berman AE, Bernabe E, Bernstein RS, Bertolacci GJ, Beuran M, Beyranvand T, Bhalla A, Bhattarai S, Bhaumik S, Bhutta ZA, Biadgo B, Biehl MH, Bijani A, Bikbov B, Bilano V, Bililign N, Bin Sayeed MS, Bisanzio D, Biswas T, Blacker BF, Basara BB, Borschmann R, Bosetti C, Bozorgmehr K, Brady OJ, Brant LC, Brayne C, Brazinova A, Breitborde NJK, Brenner H, Briant PS, Britton G, Brugha T, Busse R, Butt ZA, Callender CSKH, Campos-Nonato IR, Campuzano Rincon JC, Cano J, Car M, Cárdenas R, Carreras G, Carrero JJ, Carter A, Carvalho F, Castañeda-Orjuela CA, Castillo Rivas J, Castle CD, Castro C, Castro F, Catalá-López F, Cerin E, Chaiah Y, Chang J-C, Charlson FJ, Chaturvedi P, Chiang PP-C, Chimed-Ochir O, Chisumpa VH, Chittheer A, Chowdhury R, Christensen H, Christopher DJ, Chung S-C, Cicuttini FM, Ciobanu LG, Cirillo M, Cohen AJ, Cooper LT, Cortesi PA, Cortinovis M, Cousin E, Cowie BC, Criqui MH, Cromwell EA, Crowe CS, Crump JA, Cunningham M, Daba AK, Dadi AF, Dandona L, Dandona R, Dang AK, Dargan PI, Daryani A, Das SK, Gupta RD, Neves JD, Dasa TT, Dash AP, Davis AC, Davis Weaver N, Davitoiu DV, Davletov K, De La Hoz FP, De Neve J-W, Degefa MG, Degenhardt L, Degfie TT, Deiparine S, Demoz GT, Demtsu BB, Denova-Gutiérrez E, Deribe K, Derveniz N, Des Jarlais DC, Dessie GA, Dey S, Dharmaratne SD, Dicker D, Dinberu MT, Ding EL, Dirac MA, Djalalinia S, Dokova K, Doku DT, Donnelly CA, Dorsey ER, Doshi PP, Douwes-Schultz D, Doyle KE, Driscoll TR, Dubey M, Dubljanin E, Duken EE, Duncan BB, Duraes AR, Ebrahimi H, Ebrahimpour S, Edessa D, Edvardsson D, Eggen AE, El Bcheraoui C, El

Sayed Zaki M, El-Khatib Z, Elkout H, Ellingsen CL, Endres M, Endries AY, Er B, Erskine HE, Eshrati B, Eskandarieh S, Esmaeili R, Esteghamati A, Fakhar M, Fakhim H, Faramarzi M, Fareed M, Farhadi F, Farinha CSEs, Faro A, Farvid MS, Farzadfar F, Farzaei MH, Feigin VL, Feigl AB, Fentahun N, Fereshtehnejad S-M, Fernandes E, Fernandes JC, Ferrari AJ, Feyissa GT, Filip I, Finegold S, Fischer F, Fitzmaurice C, Foigt NA, Foreman KJ, Fornari C, Frank TD, Fukumoto T, Fuller JE, Fullman N, Fürst T, Furtado JM, Futran ND, Gallus S, Garcia-Basteiro AL, Garcia-Gordillo MA, Gardner WM, Gebre AK, Gebrehiwot TT, Gebremedhin AT, Gebremichael B, Gebremichael TG, Gelano TF, Geleijnse JM, Genova-Maleras R, Geramo YCD, Gething PW, Gezae KE, Ghadami MR, Ghadimi R, Ghasemi Falavarjani K, Ghasemi-Kasman M, Ghimire M, Gibney KB, Gill PS, Gill TK, Gillum RF, Ginawi IA, Giroud M, Giussani G, Goenka S, Goldberg EM, Goli S, Gómez-Dantés H, Gona PN, Gopalani SV, Gorman TM, Goto A, Goulart AC, Gnedovskaya EV, Grada A, Grosso G, Gugnani HC, Guimaraes ALS, Guo Y, Gupta PC, Gupta R, Gupta R, Gupta T, Gutiérrez RA, Gyawali B, Haagsma JA, Hafezi-Nejad N, Hagos TB, Hailegiyorgis TT, Hailu GB, Haj-Mirzaian A, Haj-Mirzaian A, Hamadeh RR, Hamidi S, Handal AJ, Hankey GJ, Harb HL, Harikrishnan S, Haro JM, Hasan M, Hassankhani H, Hassen HY, Havmoeller R, Hay RJ, Hay SI, He Y, Hedayatizadeh-Omran A, Hegazy MI, Heibati B, Heidari M, Hendrie D, Henok A, Henry NJ, Herteliu C, Heydarpour F, Heydarpour P, Heydarpour S, Hibstu DT, Hoek HW, Hole MK, Homaie Rad E, Hoogar P, Hosgood HD, Hosseini SM, Hosseinzadeh M, Hostiuc M, Hostiuc S, Hotez PJ, Hoy DG, Hsiao T, Hu G, Huang JJ, Hussein A, Hussien MM, Hutfless S, Idrisov B, Ilesanmi OS, Iqbal U, Irvani SSN, Irvine CMS, Islam N, Islam SMS, Islami F, Jacobsen KH, Jahangiry L, Jahanmehr N, Jain SK, Jakovljevic M, Jalu MT, James SL, Javanbakht M, Jayatilleke AU, Jeemon P, Jenkins KJ, Jha RP, Jha V, Johnson CO, Johnson SC, Jonas JB, Joshi A, Jozwiak JJ, Jungari SB, Jürisson M, Kabir Z, Kadel R, Kahsay A, Kalani R, Karami M, Karami Matin B, Karch A, Karema C, Karimi-Sari H, Kasaeian A, Kassa DH, Kassa GM, Kassa TD, Kassebaum NJ, Katikireddi SV, Kaul A, Kazemi Z, Karyana AK, Kazi DS, Kefale AT, Keiyoro PN, Kemp GR, Kengne AP, Keren A, Kesavachandran CN, Khader YS, Khafaei B, Khafaie MA, Khajavi A, Khalid N, Khalil IA, Khan EA, Khan MS, Khan MA, Khang Y-H, Khater MM, Khoja AT, Khosravi A, Khosravi MH, Khubchandani J, Kiadaliri AA, Kibret GD, Kidanemariam ZT, Kiirithio DN, Kim D, Kim Y-E, Kim YJ, Kimokoti RW, Kinfu Y, Kisa A, Kissimova-Skarbek K, Kivimäki M, Knudsen AKS, Kocarnik JM, Kochhar S, Kokubo Y, Kolola T, Kopec JA, Koul PA, Koyanagi A, Kravchenko MA, Krishan K, Kuate Defo B, Kucuk Bicer B, Kumar GA, Kumar M, Kumar P, Kutz MJ, Kuzin I, Kyu HH, Lad DP, Lad

SD, Lafranconi A, Lal DK, Laloo R, Lallukka T, Lam JO, Lami FH, Lansingh VC, Lansky S, Larson HJ, Latifi A, Lau KM-M, Lazarus JV, Lebedev G, Lee PH, Leigh J, Leili M, Leshargie CT, Li S, Li Y, Liang J, Lim L-L, Lim SS, Limenih MA, Linn S, Liu S, Liu Y, Lodha R, Lonsdale C, Lopez AD, Lorkowski S, Lotufo PA, Lozano R, Lunevicius R, Ma S, Macarayan ERK, Mackay MT, MacLachlan JH, Maddison ER, Madotto F, Magdy Abd El Razek H, Magdy Abd El Razek M, Maghavani DP, Majdan M, Majdzadeh R, Majeed A, Malekzadeh R, Malta DC, Manda A-L, Mandarano-Filho LG, Manguerra H, Mansournia MA, Mapoma CC, Marami D, Maravilla JC, Marcenes W, Marczak L, Marks A, Marks GB, Martinez G, Martins-Melo FR, Martopullo I, März W, Marzan MB, Masci JR, Massenburg BB, Mathur MR, Mathur P, Matzopoulos R, Maulik PK, Mazidi M, McAlinden C, McGrath JJ, McKee M, McMahon BJ, Mehata S, Mehndiratta MM, Mehrotra R, Mehta KM, Mehta V, Mekonnen TC, Melese A, Melku M, Memiah PTN, Memish ZA, Mendoza W, Mengistu DT, Mengistu G, Mensah GA, Mereta ST, Meretoja A, Meretoja TJ, Mestrovic T, Mezgebe HB, Miazgowski B, Miazgowski T, Milllear AI, Miller TR, Miller-Petrie MK, Mini GK, Mirabi P, Mirarefin M, Mirica A, Mirrakhimov EM, Misganaw AT, Mitiku H, Moazen B, Mohammad KA, Mohammadi M, Mohammadifard N, Mohammed MA, Mohammed S, Mohan V, Mokdad AH, Molokhia M, Monasta L, Moradi G, Moradi-Lakeh M, Moradinazar M, Moraga P, Morawska L, Moreno Velásquez I, Morgado-Da-Costa J, Morrison SD, Moschos MM, Mouodi S, Mousavi SM, Muchie KF, Mueller UO, Mukhopadhyay S, Muller K, Mumford JE, Musa J, Musa KI, Mustafa G, Muthupandian S, Nachega JB, Nagel G, Naheed A, Nahvijou A, Naik G, Nair S, Najafi F, Naldi L, Nam HS, Nangia V, Nansseu JR, Nascimento BR, Natarajan G, Neamati N, Negoï I, Negoï RI, Neupane S, Newton CRJ, Ngalesoni FN, Ngunjiri JW, Nguyen AQ, Nguyen G, Nguyen HT, Nguyen HT, Nguyen LH, Nguyen M, Nguyen TH, Nichols E, Ningrum DNA, Nirayo YL, Nixon MR, Nolutshungu N, Nomura S, Norheim OF, Noroozi M, Norrving B, Noubiap JJ, Nouri HR, Nourollahpour Shiadeh M, Nowroozi MR, Nyasulu PS, Odell CM, Ofori-Asenso R, Ogbo FA, Oh I-H, Oladimeji O, Olagunju AT, Olivares PR, Olsen HE, Olusanya BO, Olusanya JO, Ong KL, Ong SKS, Oren E, Orpana HM, Ortiz A, Ortiz JR, Otstavnov SS, Øverland S, Owolabi MO, Özdemir R, P A M, Pacella R, Pakhale S, Pakhare AP, Pakpour AH, Pana A, Panda-Jonas S, Pandian JD, Parisi A, Park E-K, Parry CDH, Parsian H, Patel S, Pati S, Patton GC, Paturi VR, Paulson KR, Pereira A, Pereira DM, Perico N, Pesudovs K, Petzold M, Phillips MR, Piel FB, Pigott DM, Pillay JD, Pirsahab M, Pishgar F, Polinder S, Postma MJ, Pourshams A, Poustchi H, Pujar A, Prakash S, Prasad N, Purcell CA, Qorbani M, Quintana H, Quistberg DA, Rade KW, Radfar A, Rafay A, Rafiei A, Rahim F, Rahimi K, Rahimi-Movaghar A,

Rahman M, Rahman MHU, Rahman MA, Rai RK, Rajsic S, Ram U, Ranabhat CL, Ranjan P, Rao PC, Rawaf DL, Rawaf S, Razo-García C, Reddy KS, Reiner RC, Reitsma MB, Remuzzi G, Renzaho AMN, Resnikoff S, Rezaei S, Rezaeian S, Rezai MS, Riahi SM, Ribeiro ALP, Rios-Blancas MJ, Roba KT, Roberts NLS, Robinson SR, Roever L, Ronfani L, Roshandel G, Rostami A, Rothenbacher D, Roy A, Rubagotti E, Sachdev PS, Saddik B, Sadeghi E, Safari H, Safdarian M, Safi S, Safiri S, Sagar R, Sahebkar A, Sahraian MA, Salam N, Salama JS, Salamati P, Saldanha RDF, Saleem Z, Salimi Y, Salvi SS, Salz I, Sambala EZ, Samy AM, Sanabria J, Sanchez-Niño MD, Santomauro DF, Santos IS, Santos JV, Milicevic MMS, Sao Jose BP, Sarker AR, Sarmiento-Suárez R, Sarrafzadegan N, Sartorius B, Sarvi S, Sathian B, Satpathy M, Sawant AR, Sawhney M, Saxena S, Sayyah M, Schaeffner E, Schmidt MI, Schneider IJC, Schöttker B, Schutte AE, Schwebel DC, Schwendicke F, Scott JG, Sekerija M, Sepanlou SG, Serván-Mori E, Seyedmousavi S, Shabaninejad H, Shackelford KA, Shafieesabet A, Shahbazi M, Shaheen AA, Shaikh MA, Shams-Beyranvand M, Shamsi M, Shamsizadeh M, Sharafi K, Sharif M, Sharif-Alhoseini M, Sharma R, She J, Sheikh A, Shi P, Shiferaw MS, Shigematsu M, Shiri R, Shirkoohi R, Shiue I, Shokraneh F, Shrimme MG, Si S, Siabani S, Siddiqi TJ, Sigfusdottir ID, Sigurvinsdottir R, Silberberg DH, Silva DAS, Silva JP, Silva NTD, Silveira DGA, Singh JA, Singh NP, Singh PK, Singh V, Sinha DN, Sliwa K, Smith M, Sobaih BH, Sobhani S, Sobngwi E, Soneji SS, Soofi M, Sorensen RJD, Soriano JB, Soyiri IN, Sposato LA, Sreeramareddy CT, Srinivasan V, Stanaway JD, Starodubov VI, Stathopoulou V, Stein DJ, Steiner C, Stewart LG, Stokes MA, Subart ML, Sudaryanto A, Sufiyan MaB, Sur PJ, Sutradhar I, Sykes BL, Sylaja PN, Sylte DO, Szoeki CEI, Tabarés-Seisdedos R, Tabuchi T, Tadakamadla SK, Takahashi K, Tandon N, Tassew SG, Taveira N, Tehrani-Banihashemi A, Tekalign TG, Tekle MG, Temsah M-H, Temsah O, Terkawi AS, Teshale MY, Tessema B, Tessema GA, Thankappan KR, Thirunavukkarasu S, Thomas N, Thrift AG, Thurston GD, Tilahun B, To QG, Tobe-Gai R, Tonelli M, Topor-Madry R, Torre AE, Tortajada-Girbés M, Touvier M, Tovani-Palone MR, Tran BX, Tran KB, Tripathi S, Troeger CE, Truelsen TC, Truong NT, Tsadik AG, Tsoi D, Tudor Car L, Tuzcu EM, Tyrovolas S, Ukwaja KN, Ullah I, Undurraga EA, Updike RL, Usman MS, Uthman OA, Uzun SB, Vaduganathan M, Vaezi A, Vaidya G, Valdez PR, Varavikova E, Vasankari TJ, Venketasubramanian N, Villafaina S, Violante FS, Vladimirov SK, Vlassov V, Vollset SE, Vos T, Wagner GR, Wagnew FS, Waheed Y, Wallin MT, Walson JL, Wang Y, Wang Y-P, Wassie MM, Weiderpass E, Weintraub RG, Weldegebreel F, Weldegwergs KG, Werdecker A, Werkneh AA, West TE, Westerman R, Whiteford HA, Widecka J, Wilner LB, Wilson S, Winkler AS, Wiysonge CS,

- Wolfe CDA, Wu S, Wu Y-C, Wyper GMA, Xavier D, Xu G, Yadgir S, Yadollahpour A, Yahyazadeh Jabbari SH, Yakob B, Yan LL, Yano Y, Yaseri M, Yasin YJ, Yentür GK, Yeshaneh A, Yimer EM, Yip P, Yirsaw BD, Yisma E, Yonemoto N, Yonga G, Yoon S-J, Yotebieng M, Younis MZ, Yousefifard M, Yu C, Zadnik V, Zaidi Z, Zaman SB, Zamani M, Zare Z, Zeleke AJ, Zenebe ZM, Zhang AL, Zhang K, Zhou M, Zodpey S, Zuhlke LJ, Naghavi M, Murray CJL. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*. 2018;392(10159):1736-88.
21. Lerchl K, Rakova N, Dahlmann A, Rauh M, Goller U, Basner M, Dinges DF, Beck L, Agureev A, Larina I, Baranov V, Morukov B, Eckardt K-U, Vassilieva G, Wabel P, Vienken J, Kirsch K, Johannes B, Krannich A, Luft FC, Titze J. Agreement Between 24-Hour Salt Ingestion and Sodium Excretion in a Controlled Environment. *Hypertension*. 2015;66(4):850-7.
 22. Cannon PJ, Maudsley AA, Hilal SK, Simon HE, Cassidy F. Sodium nuclear magnetic resonance imaging of myocardial tissue of dogs after coronary artery occlusion and reperfusion. *J Am Coll Cardiol*. 1986;7(3):573-9.
 23. Kopp C, Linz P, Wachsmuth L, Dahlmann A, Horbach T, Schofl C, Renz W, Santoro D, Niendorf T, Muller 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.
 24. Kopp C, Linz P, Dahlmann A, Hammon M, Jantsch J, Muller DN, Schmieder RE, Cavallaro A, Eckardt 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.
 25. Dahlmann A, Dorfelt K, Eicher F, Linz P, Kopp C, Mossinger I, Horn S, Buschges-Seraphin B, Wabel P, Hammon M, Cavallaro A, Eckardt KU, Kotanko P, Levin NW, Johannes B, Uder M, Luft FC, Muller DN, Titze JM. Magnetic resonance-determined sodium removal from tissue stores in hemodialysis patients. *Kidney international*. 2015;87(2):434-41.
 26. Hammon M, Grossmann S, Linz P, Kopp C, Dahlmann A, Garlichs C, Janka R, Cavallaro A, Luft FC, Uder M, Titze J. ²³Na Magnetic Resonance Imaging of the Lower Leg of Acute Heart Failure Patients during Diuretic Treatment. *PLoS One*. 2015;10(10):e0141336.
 27. Hammon M, Grossmann S, Linz P, Seuss H, Hammon R, Rosenhauer D, Janka R, Cavallaro A, Luft FC, Titze J, Uder M, Dahlmann A. 3 Tesla ²³Na Magnetic Resonance Imaging During Acute Kidney Injury. *Acad Radiol*. 2017.

28. Schneider MP, Raff U, Kopp C, Scheppach JB, Toncar S, Wanner C, Schlieper G, Saritas T, Floege J, Schmid M, Birukov A, Dahlmann A, Linz P, Janka R, Uder M, Schmieder RE, Titze JM, Eckardt KU. Skin Sodium Concentration Correlates with Left Ventricular Hypertrophy in CKD. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* 2017;28(6):1867-76.
29. Crescenzi R, Marton A, Donahue PMC, Mahany HB, Lants SK, Wang P, Beckman JA, Donahue MJ, Titze J. Tissue Sodium Content is Elevated in the Skin and Subcutaneous Adipose Tissue in Women with Lipedema. *Obesity (Silver Spring).* 2017.
30. Kopp C, Beyer C, Linz P, Dahlmann A, Hammon M, Jantsch J, Neubert P, Rosenhauer D, Muller DN, Cavallaro A, Eckardt KU, Schett G, Luft FC, Uder M, Distler JH, Titze J. Na⁺ deposition in the fibrotic skin of systemic sclerosis patients detected by ²³Na-magnetic resonance imaging. *Rheumatology (Oxford, England).* 2017;56(4):674.
31. Guzman-Limon M, Samuels J. Pediatric Hypertension: Diagnosis, Evaluation, and Treatment. *Pediatric clinics of North America.* 2019;66(1):45-57.
32. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, Mullany EC, Biryukov S, Abbafati C, Abera SF, Abraham JP, Abu-Rmeileh NM, Achoki T, AlBuhairan FS, Alemu ZA, Alfonso R, Ali MK, Ali R, Guzman NA, Ammar W, Anwar P, Banerjee A, Barquera S, Basu S, Bennett DA, Bhutta Z, Blore J, Cabral N, Nonato IC, Chang JC, Chowdhury R, Courville KJ, Criqui MH, Cundiff DK, Dabhadkar KC, Dandona L, Davis A, Dayama A, Dharmaratne SD, Ding EL, Durrani AM, Esteghamati A, Farzadfar F, Fay DF, Feigin VL, Flaxman A, Forouzanfar MH, Goto A, Green MA, Gupta R, Hafezi-Nejad N, Hankey GJ, Harewood HC, Havmoeller R, Hay S, Hernandez L, Husseini A, Idrisov BT, Ikeda N, Islami F, Jahangir E, Jassal SK, Jee SH, Jeffreys M, Jonas JB, Kabagambe EK, Khalifa SE, Kengne AP, Khader YS, Khang YH, Kim D, Kimokoti RW, Kinge JM, Kokubo Y, Kosen S, Kwan G, Lai T, Leinsalu M, Li Y, Liang X, Liu S, Logroscino G, Lotufo PA, Lu Y, Ma J, Mainoo NK, Mensah GA, Merriman TR, Mokdad AH, Moschandreas J, Naghavi M, Naheed A, Nand D, Narayan KM, Nelson EL, Neuhouser ML, Nisar MI, Ohkubo T, Oti SO, Pedroza A, Prabhakaran D, Roy N, Sampson U, Seo H, Sepanlou SG, Shibuya K, Shiri R, Shiue I, Singh GM, Singh JA, Skirbekk V, Stapelberg NJ, Sturua L, Sykes BL, Tobias M, Tran BX, Trasande L, Toyoshima H, van de Vijver S, Vasankari TJ, Veerman JL, Velasquez-Melendez G, Vlassov VV, Vollset SE, Vos T, Wang C, Wang X, Weiderpass E, Werdecker A, Wright JL, Yang YC, Yatsuya H, Yoon J, Yoon SJ, Zhao Y, Zhou M, Zhu S, Lopez AD, Murray CJ, Gakidou E. Global, regional, and national prevalence of overweight

- and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* (London, England). 2014;384(9945):766-81.
33. Schienkiewitz A, Brettschneider A-K, Damerow S, Rosario AS. Übergewicht und Adipositas im Kindes- und Jugendalter in Deutschland – Querschnittergebnisse aus KiGGS Welle 2 und Trends. *Journal of Health Monitoring*. 2018;3(1).
 34. Schienkiewitz A, Damerow S, Schaffrath Rosario A. Prävalenz von Untergewicht, Übergewicht und Adipositas bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland – Einordnung der Ergebnisse aus KiGGS Welle 2 nach internationalen Referenzsystemen. *Journal of Health Monitoring*. 2018;3(3):60--74.
 35. Lu Y, Hajifathalian K, Ezzati M, Woodward M, Rimm EB, Danaei G. Metabolic mediators of the effects of body-mass index, overweight, and obesity on coronary heart disease and stroke: a pooled analysis of 97 prospective cohorts with 1.8 million participants. *Lancet* (London, England). 2014;383(9921):970-83.
 36. Collaborators TGO. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(1):13-27.
 37. Juonala M, Magnussen CG, Berenson GS, Venn A, Burns TL, Sabin MA, Srinivasan SR, Daniels SR, Davis PH, Chen W, Sun C, Cheung M, Viikari JSA, Dwyer T, Raitakari OT. Childhood Adiposity, Adult Adiposity, and Cardiovascular Risk Factors. *New England Journal of Medicine*. 2011;365(20):1876-85.
 38. Twig G, Yaniv G, Levine H, Leiba A, Goldberger N, Derazne E, Ben-Ami Shor D, Tzur D, Afek A, Shamiss A, Haklai Z, Kark JD. Body-Mass Index in 2.3 Million Adolescents and Cardiovascular Death in Adulthood. *New England Journal of Medicine*. 2016;374(25):2430-40.
 39. Chang AR, Grams ME, Ballew SH, Bilo H, Correa A, Evans M, Gutierrez OM, Hosseinpanah F, Iseki K, Kenealy T, Klein B, Kronenberg F, Lee BJ, Li Y, Miura K, Navaneethan SD, Roderick PJ, Valdivielso JM, Visseren FLJ, Zhang L, Gansevoort RT, Hallan SI, Levey AS, Matsushita K, Shalev V, Woodward M, Consortium CKDP. Adiposity and risk of decline in glomerular filtration rate: meta-analysis of individual participant data in a global consortium. *BMJ*. 2019;364:k5301-k.
 40. Abdullah A, Wolfe R, Stoelwinder JU, de Courten M, Stevenson C, Walls HL, Peeters A. The number of years lived with obesity and the risk of all-cause and cause-specific mortality. *International journal of epidemiology*. 2011;40(4):985-96.
 41. Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D, Geller F, Geiß HC, Hesse V, von Hippel A, Jaeger U, Johnsen D, Korte W, Menner K, Müller G, Müller JM, Niemann-Pilatus A, Remer

- T, Schaefer F, Wittchen H-U, Zabransky S, Zellner K, Ziegler A, Hebebrand J. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschrift Kinderheilkunde*. 2001;149(8):807-18.
42. Neuhauser HK, Thamm M, Ellert U, Hense HW, Rosario AS. Blood pressure percentiles by age and height from nonoverweight children and adolescents in Germany. *Pediatrics*. 2011;127(4):e978-88.
 43. Reiser M, Kuhn F-P, Debus J. *Duale Reihe Radiologie*. Stuttgart: Thieme; 2017.
 44. Lykowsky G. Hardware- und Methodenentwicklung für die ²³Na- und ¹⁹F-Magnetresonanztomographie. Hardware and method development for ²³Na and ¹⁹F magnetic resonance imaging 2019.
 45. Wang P, Deger MS, Kang H, Ikizler TA, Titze J, Gore JC. Sex differences in sodium deposition in human muscle and skin. *Magn Reson Imaging*. 2017;36:93-7.
 46. Machnik A, Neuhofer W, Jantsch J, Dahlmann A, Tammela T, Machura K, Park JK, Beck FX, Muller 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. *Nature medicine*. 2009;15(5):545-52.
 47. Kopp C, Linz P, Maier C, Wabel P, Hammon M, Nagel AM, Rosenhauer D, Horn S, Uder M, Luft FC, Titze J, Dahlmann A. Elevated tissue sodium deposition in patients with type 2 diabetes on hemodialysis detected by (²³)Na magnetic resonance imaging. *Kidney international*. 2018;93(5):1191-7.
 48. Roth S, Marko L, Birukov A, Hennemuth A, Kuhnen P, Jones A, Ghorbani N, Linz P, Muller DN, Wiegand S, Berger F, Kuehne T, Kelm M. Tissue Sodium Content and Arterial Hypertension in Obese Adolescents. *J Clin Med*. 2019;8(12).
 49. Rumantir MS, Vaz M, Jennings GL, Collier G, Kaye DM, Seals DR, Wiesner GH, Brunner-La Rocca HP, Esler MD. Neural mechanisms in human obesity-related hypertension. *J Hypertens*. 1999;17(8):1125-33.
 50. Yatabe MS, Yatabe J, Yoneda M, Watanabe T, Otsuki M, Felder RA, Jose PA, Sanada H. Salt sensitivity is associated with insulin resistance, sympathetic overactivity, and decreased suppression of circulating renin activity in lean patients with essential hypertension. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(1):77-82.
 51. Hall JE. The Kidney, Hypertension, and Obesity. *Hypertension*. 2003;41(3):625-33.

52. Deger SM, Wang P, Fissell R, Ellis CD, Booker C, Sha F, Morse JL, Stewart TG, Gore JC, Siew ED, Titze J, Ikizler TA. Tissue sodium accumulation and peripheral insulin sensitivity in maintenance hemodialysis patients. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2017;8(3):500-7.
53. Han SY, Kim NH, Kim DH, Han K, Kim SM. Relationship between urinary sodium-creatinine ratios and insulin resistance in Korean children and adolescents with obesity. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*. 2018;31(4):375-83.
54. Zhou MS, Liu C, Tian R, Nishiyama A, Rajj L. Skeletal muscle insulin resistance in salt-sensitive hypertension: role of angiotensin II activation of NFkappaB. *Cardiovasc Diabetol*. 2015;14:45.

9. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, **Sophie Roth**, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „*Gewebe-Natrium, Adipositas und arterielle Hypertonie bei Jugendlichen*“ 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.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, 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

9.1 Anteilserklärung an der erfolgten Publikation als Top-Journal

Es liegt keine geteilte Autorenschaft vor. Die Promovendin Sophie Roth hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation 1: **Sophie Roth**, Lajos Markó, Anna Birukov, Anja Hennemuth, Peter Kühnen, Alexander Jones, Niky Ghorbani, Peter Linz, Dominik N Müller, Susanna Wiegand, Felix Berger, Titus Kuehne und Marcus Kelm, „*Tissue Sodium Content and Arterial Hypertension in Obese Adolescents*“ Journal of Clinical Medicine, 2019

Beitrag im Einzelnen:

- Umfassende Literaturrecherche bezüglich ^{23}Na -MRT (physikalische Hintergründe und bisherige Anwendungen), Salz-Sensibilität, arterieller Hypertonie und Insulinresistenz sowie deren Zusammenhänge
- Erweiterung des bestehenden Ethikantrags hinsichtlich Rekrutierung einer Kontrollgruppe und Anpassung des Alters der Studienteilnehmenden
- Eigenständige Rekrutierung der Studienteilnehmenden und Erhebung der klinischen Parameter (z.B. Gewicht, Größe, nicht-invasive Blutdruckmessung, Salzfragebogen)
- Eigenständige Durchführung der ^{23}Na - und ^1H -MRT
- Umfassende Einarbeitung in die Auswertungs-Software ImageJ und Optimierung der Methodik
- Eigenständige Auswertung der ^{23}Na - und ^1H -MRT-Datensätze: Markierung der ROIs und Bestimmung der Na^+ - und Wasser-Gehalte der gesamten Studienteilnehmenden
- Manuelle Erstellung und Führung der anonymisierten Datenbank aus den gesamten erhobenen Daten
- Wesentlicher Anteil an der statistischen Analyse in Kooperation mit Dr. M. Kelm
- Eigenständige Interpretation der Daten und Einordnung in den wissenschaftlichen Kontext
- Erstellung der Tabelle 1 der Publikation aus den klinischen Datensätzen
- Wesentlicher Anteil an der Erstellung der Graphiken aus Abbildung 1-4, sowie der Supplementary Figures 1-3 in Kooperation mit Dr. M. Kelm
- Eigenständige Konzeption, Verfassung und Einreichung des Manuskripts (inhaltliche Überarbeitung im internen Reviewprozess in Kooperation mit Dr. M. Kelm, Prof. Dr. T. Kühne, Dr. L. Markó und Prof. Dr. D. N. Müller)

- Revision des Manuskripts und Umsetzung der Änderungsvorschläge der Reviewer

Unterschrift, Datum und Stempel des erstbetreuenden Hochschullehrers

Unterschrift der Doktorandin

10. Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2018** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **"MEDICINE, GENERAL and INTERNAL"**
 Selected Category Scheme: WoS
Gesamtanzahl: 160 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE	344,581	70.670	0.686700
2	LANCET	247,292	59.102	0.427870
3	JAMA-JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION	156,350	51.273	0.300810
4	Nature Reviews Disease Primers	4,339	32.274	0.019740
5	BMJ-British Medical Journal	112,901	27.604	0.152760
6	JAMA Internal Medicine	15,215	20.768	0.095580
7	ANNALS OF INTERNAL MEDICINE	57,057	19.315	0.096020
8	PLOS MEDICINE	30,689	11.048	0.071200
9	Journal of Cachexia Sarcopenia and Muscle	2,799	10.754	0.005870
10	BMC Medicine	13,630	8.285	0.045220
11	Cochrane Database of Systematic Reviews	67,607	7.755	0.158690
12	MAYO CLINIC PROCEEDINGS	14,695	7.091	0.025750
13	CANADIAN MEDICAL ASSOCIATION JOURNAL	15,351	6.938	0.016500
14	JOURNAL OF INTERNAL MEDICINE	10,547	6.051	0.015700
15	Journal of Clinical Medicine	2,315	5.688	0.007210
16	MEDICAL JOURNAL OF AUSTRALIA	11,134	5.332	0.012600
17	PALLIATIVE MEDICINE	5,682	4.956	0.009860
18	AMYLOID-JOURNAL OF PROTEIN FOLDING DISORDERS	1,335	4.919	0.003270

11. Publikation



Article

Tissue Sodium Content and Arterial Hypertension in Obese Adolescents

Sophie Roth ^{1,2}, Lajos Markó ^{3,4,5,6}, Anna Birukov ^{3,4,5,6}, Anja Hennemuth ¹, Peter Kühnen ⁷, Alexander Jones ⁸, Niky Ghorbani ¹, Peter Linz ⁹, Dominik N Müller ^{3,4,5,6}, Susanna Wiegand ⁷, Felix Berger ^{2,3}, Titus Kuehne ^{1,2,*} and Marcus Kelm ^{1,2,*}

¹ Institute for Computational and Imaging Science in Cardiovascular Medicine, Charité–Universitätsmedizin 13353 Berlin, Germany; sophie.roth@charite.de (S.R.); anja.hennemuth@charite.de (A.H.); niky.ghorbani@charite.de (N.G.); titus.kuehne@dhzb.de (T.K.)

² Deutsches Herzzentrum Berlin, Department of Congenital Heart Disease, 13353 Berlin, Germany; berger@dhzb.de

³ DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), partner site Berlin, 10785 Berlin, Germany; lajosmarko@yahoo.com (L.M.); anna.birukov@charite.de (A.B.); dominik.mueller@mdc-berlin.de (D.N.M.)

⁴ Max Delbrück Center for Molecular Medicine, 13092 Berlin, Germany

⁵ Berlin Institute of Health (BIH), 10178 Berlin, Germany

⁶ Experimental and Clinical Research Center, a joint cooperation between the Charité Medical Faculty and the Max Delbrück Center for Molecular Medicine, 13125 Berlin, Germany

⁷ Department of Paediatrics, Charité–Universitätsmedizin Berlin, 13353 Berlin, Germany; peter.kuehnen@charite.de (P.K.); susanna.wiegand@charite.de (S.W.)

⁸ Department of Paediatrics, University of Oxford, Oxford OX3 9DU, UK; alexander.jones@paediatrics.ox.ac.uk

⁹ Institute of Radiology, Friedrich-Alexander-University Erlangen-Nürnberg, 91054 Erlangen, Germany; Peter.Linz@uk-erlangen.de

* Correspondence: mkelm@dhzb.de; Tel.: +49-(0)30-4593-2864; Fax: +49-(0)30-4505-76983

Received: 25 September 2019; Accepted: 15 November 2019; Published: 21 November 2019



Abstract: Early-onset obesity is known to culminate in type 2 diabetes, arterial hypertension and subsequent cardiovascular disease. The role of sodium (Na⁺) homeostasis in this process is incompletely understood, yet correlations between Na⁺ accumulation and hypertension have been observed in adults. We aimed to investigate these associations in adolescents. A cohort of 32 adolescents (13–17 years), comprising 20 obese patients, of whom 11 were hypertensive, as well as 12 age-matched controls, underwent ²³Na-MRI of the left lower leg with a standard clinical 3T scanner. Median triceps surae muscle Na⁺ content in hypertensive obese (11.95 mmol/L [interquartile range 11.62–13.66]) was significantly lower than in normotensive obese (13.63 mmol/L [12.97–17.64]; *p* = 0.043) or controls (15.37 mmol/L [14.12–16.08]; *p* = 0.012). No significant differences were found between normotensive obese and controls. Skin Na⁺ content in hypertensive obese (13.33 mmol/L [11.53–14.22]) did not differ to normotensive obese (14.12 mmol/L [13.15–15.83]) or controls (11.48 mmol/L [10.48–12.80]), whereas normotensive obese had higher values compared to controls (*p* = 0.004). Arterial hypertension in obese adolescents is associated with low muscle Na⁺ content. These findings suggest an early dysregulation of Na⁺ homeostasis in cardiometabolic disease. Further research is needed to determine whether this association is causal and how it evolves in the transition to adulthood.

Keywords: obesity; sodium; hypertension; adolescents; MRI; MR-spectroscopy

1. Introduction

Since the 1980s, the prevalence of obesity in many countries has doubled, affecting an estimated 603.7 million adults and 107.7 million children [1]. Globally, four million deaths per year have been attributed to increased body mass index (BMI), often due to associated cardiovascular disease (CVD) [1]. It is assumed that the course for the development of CVD is already set in childhood, but the exact mechanisms have remained unknown [1]. Amongst others, there are indications for chronic over-activity of the sympathetic nervous system and the renin–angiotensin–aldosterone system (RAAS) [2], as well as obesity-driven low-grade systemic inflammation-promoting type 2 diabetes [3].

Nutrition is known to play an important role in the pathogenesis of obesity, and mineral sodium (Na^+) has been discussed as an essential risk factor for CVD. Many factors may mediate the ability of high salt intake to increase blood pressure, however, their relative contributions to the pathogenesis of salt-induced hypertension are controversial [4,5]. Although several studies report deleterious effects, including a rise in blood pressure and the emergence of chronic kidney disease, some other studies have found more neutral effects [4]. Nevertheless, the rate of deaths from cardiovascular causes has been attributed to sodium consumption, and was found to be lower in regions and cultures with reduced salt intake [5]. In overweight adults, sodium-induced increases in circulating volume and hypertension have been described, which can elevate mortality by promoting left ventricular hypertrophy, altering vascular resistance and ultimately leading to heart failure [6].

Intake and accrual of Na^+ over the life course may, therefore, be an important determinant of CVD risk. Measurement of Na^+ status is routinely done by analysis of spot or 24 h urines. However, doubts have been raised about the suitability of 24 h urinary Na^+ excretion for estimating exact salt intake [7]. Whether urinary Na^+ excretion is at all reflecting tissue Na^+ content is currently unknown.

In recent studies, ^{23}Na -magnetic resonance imaging (MRI) has been introduced as a reliable, non-invasive method to quantify Na^+ tissue content [8–13] that overcomes this limitation. It has been suggested that tissue Na^+ accumulation with ageing could be implicated in the pathogenesis of refractory hypertension in adults [9]. However, these studies were of adult patients with advanced disease, where the independent effects of ageing, as well as hypertension and diet-related obesity, were difficult to separate. Only little is known about Na^+ storage in children and adolescents. However, studies in younger populations would have the advantage of excluding the effects of advanced ageing or long-established disease. To overcome this knowledge gap, the study investigates the associations between Na^+ storage, hypertension and obesity in adolescent patients.

2. Materials and Methods

In this cross-sectional study twenty, previously untreated obese (aged 13–17 [median 14] years) and twelve normal-weight “control” (aged 13–16 [median 15] years) adolescents were studied. Obese and control subjects were matched for sex and age. Obese patients were recruited prospectively from the social–paediatric centre (Charité–Universitätsmedizin Berlin) between 2014 and 2017, and they were further divided into two sub-groups, according to their blood pressure status. They were defined as obese if their body mass index (BMI) exceeded the 97th Kromeyer–Hauschild percentile according to sex and age [14]. Controls were patients undergoing routine clinical diagnostic MRI for non-cardiac and non-endocrinologic reasons that volunteered to have our ^{23}Na -MRI protocol added. The primary outcome was the absolute muscle sodium content; the secondary outcome was skin sodium content. Subjects with implanted devices not compatible with MRI and those with claustrophobia were excluded. Written informed consent from participants or their legal guardians was obtained before enrolment. The study was approved by the institutional ethics review board of the Charité–Universitätsmedizin Berlin (approval reference number EA2/036/14) and conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki.

Additionally to known blood pressure status, at the time of MRI, the subjects were comfortably seated with back support for at least five minutes while arterial blood pressure was measured on the right upper arm using an oscillometric Dinamap pro-100 device (Critikon, Milwaukee, WI, USA).

Cuff size was chosen appropriately to arm circumference. As there is still no single value threshold available in obese and overweight children (BMI >85th percentile) and even adult guideline values vary between ACC and ESC guidelines [14–16], in this study, hypertension was defined if systolic and/or diastolic values exceeded age-, gender- and height-specific (95th) [16] reference percentiles.

Anthropometric data were acquired using standardised clinical protocols and participants completed a questionnaire about salt intake, answering on a scale of 1–10 according to their agreement with the question asked. An oral glucose-tolerance test (OGTT) was performed and HbA1c, fasten insulin and glucose were measured. Homeostatic model assessment (HOMA) indices above 2.0 were considered hyperinsulinism.

All subjects rested for at least 15 min before their left calf was scanned at its widest circumference. Imaging was performed on a Philips Ingenia 3.0 Tesla MR scanner (Ingenia R 5.4, Philips Healthcare, Best, The Netherlands) with a ^{23}Na send/receive knee-coil (Rapid Biomedical, Rimpf, Germany), following previously validated methods, using a 2D-spoiled gradient echo sequence (total acquisition time, TA = 20.5 min; echo time, TE = 2.138 ms; repetition time, TR = 100 ms; flip angle, FA = 90°; 196 averages, resolution: $3 \times 3 \times 30 \text{ mm}^3$) [9,10]. Four calibration phantoms containing aqueous solutions of 10, 20, 30, and 40 mmol/L NaCl were scanned as reference standards, together with the subject's calf. Simultaneously, tissue water content was measured by ^1H -MRI, using a fat-saturated inversion-prepared SE sequence (inversion time, TI = 210 ms; TA = 6.27 min; TE = 12 ms; TR = 3000 ms; FA = 90°; 1 average, resolution: $1.5 \times 1.5 \times 5 \text{ mm}^3$), as implemented by other investigators [11].

Using ImageJ (NIH, version 1.50i) and the anatomical image (T1-weighted spoiled gradient echo sequence) as guidance, regions of interest (ROI) were drawn as centrally as possible whilst excluding prominent vascular structures, which are rich in Na^+ . Relevant ROIs included the total leg, triceps surae muscle, as the largest muscle of the calf (with medial and lateral gastrocnemius and soleus; referred in the text as “muscle”), skin, tibial bone and subcutaneous fat. Muscle ROIs and subcutaneous ROIs were marked on the T1-weighted sequence, while skin ROI, total leg ROI and phantom ROIs were drawn on the Na^+ image, as already described by other authors [11]. ROI areas were assessed through each ROI's voxel count and measured in arbitrary units (AU).

The signal intensity of each ROI was measured and linear trend analysis was used to translate this intensity to a NaCl concentration, according to the calibration phantoms' predefined contents of 10, 20, 30, and 40 mmol/L [17]. A calibration standard for tissue water was based on the water content of the 10 mmol/L NaCl tube. Previous studies have suggested ^1H -MRI as a means to non-invasively assess tissue water content changes, based on a linear relationship between ^1H -MRI measurements and actual water content [9]. Thus, the combination of water and Na^+ measurements allows the differentiation of a water-dependent Na^+ storage (e.g., oedema) from water-independent Na^+ storage (e.g., bound to glycosaminoglycans) [18].

Since fat tissue is rather low in Na^+ content, we assessed whether decreased Na^+ content in muscle might be due to increased muscle fat accumulation. Muscle fat content was assessed by the ratio of fat-voxels and the total number of voxels within the muscle. As described by Kopp et al., ^1H -T1-weighted tissue signal intensities greater than 30% above the intensity level of the phantom tubes were defined “fat-voxels” [19]. The ratio of fat-voxels and the total number of voxels within the muscle was used to assess fatty muscle degeneration.

Data are expressed as median and interquartile range (Q1–Q3) unless otherwise stated. Data were tested for normality using the Shapiro–Wilk and Shapiro–Francia tests. Data were analysed for stochastic dominance among the three groups by applying a non-parametric Kruskal–Wallis test, followed by a Bonferroni-corrected Dunn's test as a nonparametric, pairwise, multiple comparison procedure. Pearson's chi-square test was used with Fisher's exact test for comparison of categorical variables. To plot the combined effects of BMI and hypertension on Na^+ content in muscle, predictive margins were calculated and plotted. Correlations were assessed by non-parametric multivariate regression analysis. Multifactorial effects (and their 95% confidence interval, CI) were assessed using robust regression. Significance level was set at $p = 0.05$ and 95% confidence intervals were

calculated. Inter-observer variability was evaluated for Na⁺ measurements of 25 different subjects using a Bland–Altman plot. Stata (Version 15.1, StataCorp, College Station, Texas, USA) was used for statistical analysis.

3. Results

Na⁺ content and tissue water content was analysed in a total of 32 subjects, of which 11 were hypertensive obese patients, nine normotensive obese patients and 12 normal-weight controls. The characteristics of these three groups are shown in Table 1. Age and sex did not significantly differ between groups, and BMI did not differ between both obesity groups (Figure 1a). Heart rate, systolic and diastolic blood pressure did not differ between normotensive obese and controls, but did between those two groups and hypertensive obese (Figure 1b–d, respectively). Only one patient had isolated diastolic blood pressure values exceeding the 95th percentile. All remaining hypertensive patients had systolic hypertension.

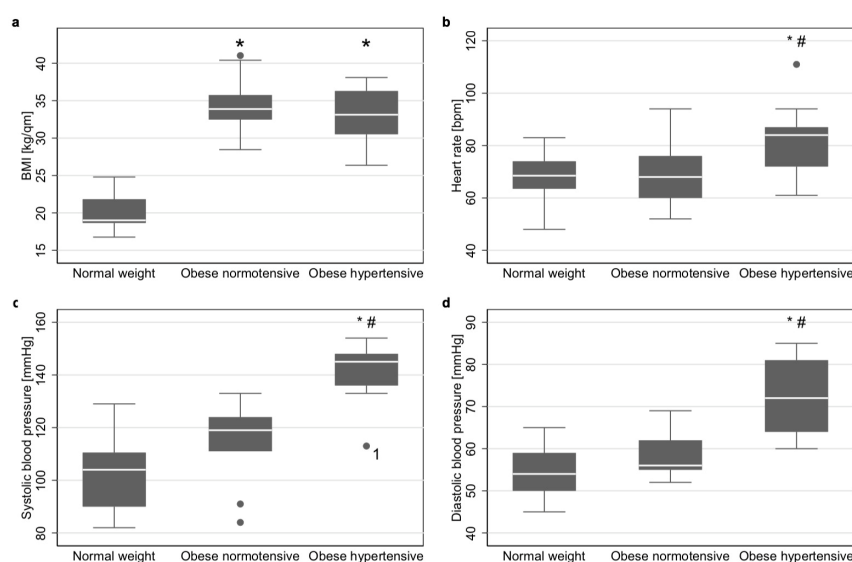


Figure 1. Group characteristics. (a) Boxplots of body-mass index (BMI) of controls, normotensive obese and hypertensive obese. (b) Boxplots of heart rate of controls, normotensive obese and hypertensive obese. (c) Boxplots of systolic blood pressure of controls, normotensive obese and hypertensive obese. (d) Boxplots of diastolic blood pressure of controls, normotensive obese and hypertensive obese. Tests were performed using a Kruskal–Wallis Test (N = 32) with inter-group p-values according to Bonferroni corrected Dunn’s test. * p-value < 0.05 compared to controls # p-value < 0.05 compared to normotensive obese. ¹ diastolic hypertension (above the 95th percentile).

Table 1. Baseline characteristics. Median (interquartile range), unless stated otherwise.

Subjects	Controls (n = 12)	Normoten-Sive Obese (n = 9)	Hyperten-Sive Obese (n = 11)	p Value Normotensive vs. Controls	p Value Hypertensive Obese vs. Controls	p Value Hypertensive Obese vs. Normotensive Obese	p Value Overall
Age [years]	15 (14–16)	15 (14–16)	14 (13–14)	1.000	0.088	0.060	0.072
Male Gender (n)	4 (33%)	4 (44%)	5 (45%)				0.808
Cross-Sectional Total Leg Area (mm ²)	3830 (3536–4387)	6862 (5917–7244)	5912 (5217–6369)	<0.001	0.0007	0.533	<0.001
Tibial Bone Area (mm ²)	229 (208–244)	311 (245–322)	284 (225–317)	0.011	0.117	0.478	0.022
Total muscle area (mm ²)	2265 (1989–2482)	3196 (2780–3565)	2960 (2750–3377)	0.002	0.003	1.000	0.001
Subcutaneous Fat Area (mm ²)	1084 (950–1363)	2526 (2078–3787)	2128 (1824–2939)	<0.001	0.001	0.758	<0.001
Questionnaire							
“How much do you like salty food?”	7 (5.5–7.5)	6 (5–8)	5 (3–8)	1.000	0.400	0.352	0.419
“How often do you add more salt to your food?”	3.5 (2–6.5)	3 (1–5)	2 (1–3)	0.497	0.059	0.504	0.129
“How much do you like salty snacks such as crisps?”	8 (5.5–8)	5 (4–7)	7 (4–9)	0.242	0.916	0.552	0.379
“How often do you eat in fast food restaurants?”	4 (2.5–4.5)	4 (3–5)	3 (2–4)	1.000	0.088	0.126	0.124
“How much money do you usually spend there?” (€)	5 (2.8–8)	9 (5–10)	5 (4–9.5)	0.197	1.000	0.161	0.218
“How often do you drink beverages without additional flavour?”	7 (5–9.5)	10 (9–10)	10 (8–10)	0.166	0.058	1.000	0.122
“How much do you drink daily?” (L)	1.5 (1.1–2)	1.5 (1–2.5)	2 (1–2.3)	0.601	0.524	1.000	0.587

Questionnaire on a scale from 1–10 (1 = I strongly disagree; 10 = I strongly agree; 10 = I strongly disagree) unless stated otherwise.

3.1. Tissue Na⁺, Water and Fat Content

We found significant differences in tibial bone Na⁺ content, subcutaneous fat Na⁺ content and water content of muscle, skin, tibial bone and subcutaneous fat in none of the groups (Supplementary Figure S1).

Muscle Na⁺ content did not differ ($p = 1.00$) between controls (15.37 mmol/L [interquartile range 14.12–16.08]) and normotensive obese (13.63 mmol/L [12.97–17.64]), but was significantly lower than both of these groups ($p = 0.012$ and $p = 0.043$, respectively) in hypertensive obese (11.95 mmol/L [11.62–13.66]) (Figure 2a). The Bland–Altman plot showed only low inter-observer variability in muscle Na⁺ content, due to variations in data processing (Supplementary Figure S2).

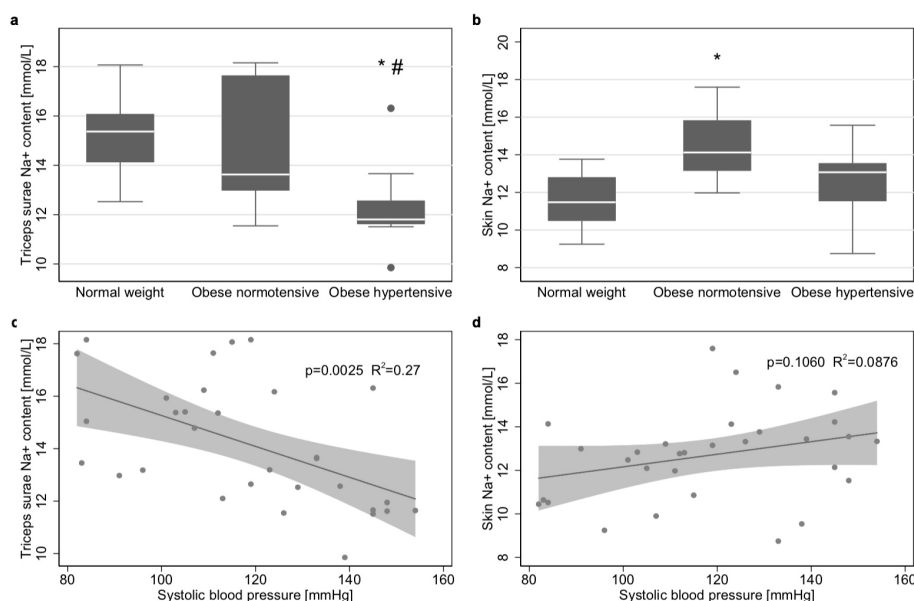


Figure 2. Na⁺ content in different tissues. (a) Boxplots of triceps surae muscle Na⁺ of controls, normotensive obese and hypertensive obese. (b) Boxplots of skin Na⁺ content of controls, normotensive obese and hypertensive obese. Tests were performed using a Kruskal–Wallis Test (N = 32) with inter-group p -values according to Bonferroni corrected Dunn’s test. * p -value <0.05 compared to controls # p -value <0.05 compared to normotensive obese. ¹diastolic hypertension (above the 95th percentile). (c) The scatter plot and the linear regression model show an inverse correlation between triceps surae Na⁺ content and systolic blood pressure ($p = 0.0025$, $R^2 = 0.27$, N = 32). (d) Scatter plot and the linear regression model, showing no significant correlation between skin Na⁺ content and systolic blood pressure ($p = 0.1060$ $R^2 = 0.09$).

In contrast, skin Na⁺ content in normotensive obese (14.12 mmol/L [13.15–15.83]) was significantly higher ($p = 0.004$) than in controls (11.48 mmol/L [10.48–12.80]), while it tended to be higher in hypertensive obese (13.33 mmol/L [11.53–14.22]; $p = 0.144$). There was no difference between obese adolescents with or without hypertension ($p = 0.237$) (Figure 2b).

Cross-sectional total Na⁺ content of all compartments in hypertensive obese was 12.01 mmol/L [11.41–12.89] and was significantly lower than in normotensive obese ($p = 0.045$) and controls ($p = 0.005$). Total Na⁺ content did not significantly differ between controls (15.15 mmol/L [12.70–15.69]) and normotensive obese (13.02 mmol/L [12.39–14.98]; $p = 0.866$).

The proportion of fat tissue within the muscle did not vary between all three groups. No significant correlation was found ($p = 0.149$, $R^2 = 0.037$) between the amount (area) of fat tissue and muscle sodium content (Table 1).

3.2. Na^+ Content and Arterial Hypertension

As recent studies have reported correlations between Na^+ accumulation and hypertension in adults [9], we further investigated these aspects in an adolescent cohort: an inverse correlation was found between muscle Na^+ content and systolic blood pressure ($p = 0.0025$; $R^2 = 0.27$; Figure 2c) and cross-sectional total sodium content ($p = 0.0173$, $R^2 = 0.12$). These effects were not attributed to BMI. In obese patients, no significant correlations were found between BMI and muscle Na^+ content and total cross-sectional Na^+ content. No significant correlation was found between skin Na^+ content and systolic blood pressure (Figure 2d).

Since a relationship between arterial hypertension and heart rate increase was described in the literature for obesity, heart rates were also compared between groups. The heart rate in hypertensive obese (84 [72–87]) was significantly higher ($p = 0.008$ and $p = 0.025$, respectively) than in controls (69 [64–74]) and normotensive obese (68 [60–76]). Between controls and normotensive obese, heart rate did not differ ($p = 0.386$, Figure 1b).

A logistic regression model (Figure 3) in obese showed that the probability of hypertension was significantly associated with lower muscle Na^+ content ($p = 0.038$). The risk for hypertension and its uncertainty is also shown in the figure, and was increased to >80% in patients with triceps surae muscle Na^+ content below 12 mmol/L.

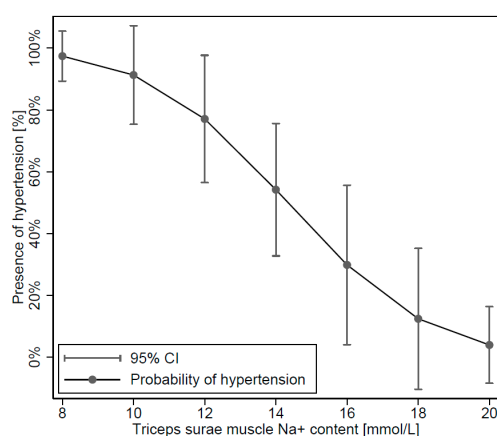


Figure 3. Logistic model showing the probability of hypertension according to muscle Na^+ content with 95% confidence intervals (CI). ($p = 0.038$; $N = 32$).

3.3. Sex Differences in Na^+ Content and Arterial Hypertension

Sex differences were assessed for all storage compartments. No significant sex-specific differences were found for muscle Na^+ content. Additionally, the associations between arterial hypertension and muscle sodium content, as well as total sodium content, were independent of the patient's sex. Robust linear regression demonstrated associations ($p < 0.001$; $R^2 = 0.40$) between skin Na^+ content and independent variables of (1) female sex (Coef. -1.31 95% CI -2.52 to -0.10 , $p = 0.034$) and (2) being normotensive obese (Coef. 2.69 95% CI 1.20 to 4.19 , $p = 0.001$) but not (3) being hypertensive obese ($p = 0.201$). Tibial bone Na^+ content was significantly lower in obese females (4.71 mmol/L [1.38–6.63]) than in obese males (7.45 mmol/L [6.10–9.14]; $p = 0.025$). Robust linear regression showed an association ($p = 0.023$; $R^2 = 0.25$) between tibial bone Na^+ content and independent variables of (1) female sex

(Coef. -3.20 , 95% CI -5.85 to -0.55 , $p = 0.020$), but not (2) being hypertensive obese ($p = 0.624$) or (3) normotensive obese ($p = 0.389$). In other compartments, we did not find sex-specific differences in Na^+ content.

3.4. Salt Intake, Tissue Na^+ and Glucose Metabolism

The responses to the questionnaire items in all groups are shown in Table 1. In all items, no differences were found between groups regarding salt appetite or salty fast food craving.

Hyperinsulinism, reflected by a HOMA index of 2.0 or higher, was found in 87% of all obese patients. We found a weak correlation between HbA1c and systolic blood pressure ($p = 0.088$; $R^2 = 0.18$, $n = 19$; Figure 4a), but a stronger one between Na^+ content of the whole leg and blood glucose levels after 1 h ($p = 0.034$; $R^2 = 0.63$; $n = 11$; Figure 4b) and 2 h of OGTT ($p = 0.084$; $R^2 = 0.56$; $n = 11$; Figure 4c). These effects were not found in other tissue compartments.

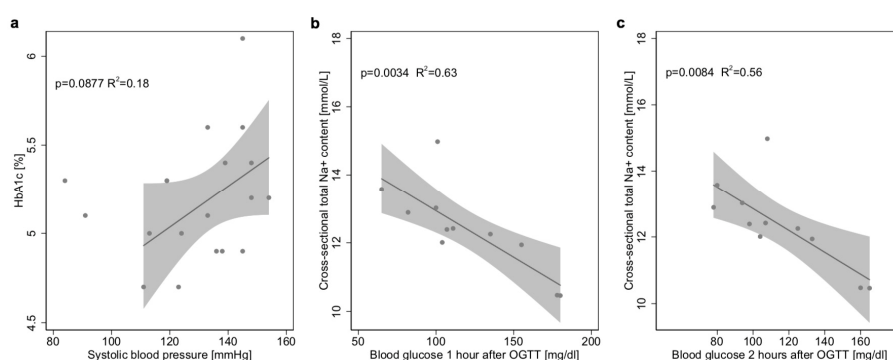


Figure 4. Tissue Na^+ and glucose metabolism. (a) Linear regression model with 95% CI combined with scatter plot, showing no significant correlation between HbA1c and systolic blood pressure ($n = 19$). (b) Linear regression model with 95% CI, combined with scatter plot showing a significant correlation between Na^+ of the whole leg and blood glucose 1 h after an oral glucose tolerance test (OGTT, $p = 0.0034$, $R^2 = 0.63$, $n = 11$). (c) The linear regression model with 95% CI, combined with scatter plot showing a significant correlation between Na^+ of the whole leg and blood glucose 2 h after an OGTT ($p = 0.0084$, $R^2 = 0.56$, $n = 11$).

3.5. Power Calculation

A power calculation using a Satterthwaite's t-test for unequal variances, based on relevant differences in muscle sodium content, and a group A (hypertensive obese) mean of 12.8 ± 1.877 and a group B (control) mean of 15.248 ± 1.657 mmol/L, a total sample size of $N = 23$ for both groups and a level of significance of 5% (two-sided), resulted in an estimated power of 92%. To estimate statistical power of differences between normotensive and hypertensive obese, a Group A (normotensive obese) mean of 14.9 ± 2.6190 and a Group B (control) mean of 15.248 ± 1.657 mmol/L, a total sample size of $N = 20$ for both groups and a level of significance of 5% (two-sided) resulted in an estimated power of 57%.

4. Discussion

Little progress has been made in preventing the emergence of cardiovascular risk factors, such as obesity and hypertension in their early stages [1,20]. The pathophysiological link between these conditions and the role of mineral Na^+ intake remains incompletely understood, hampering the development of targeted prevention measures. In previous studies, tissue Na^+ accumulation has been proposed as a factor in the pathogenesis of hypertension, based on findings of raised tissue Na^+ in hypertensive adults [9], but its association with blood pressure status in childhood has not been

studied before. We found that obese adolescents with hypertension had lower triceps surae muscle Na^+ and lower total cross-sectional Na^+ content than those without hypertension or normotensive controls. These effects were independent of the patients' BMI. When comparing our results with those of hypertensive adults, one must be aware that these studies, to our knowledge, do not consistently provide information on patients' weight [9]. Future studies should, therefore, further investigate to what extent tissue sodium storage in hypertensive and normotensive adults is linked to mechanisms of ageing and obesity.

4.1. Tissue Na^+ Contents in Adults

^{23}Na -MRI has been established as a non-invasive method for the quantification of Na^+ content in different tissues [9–13,21]. Although our picture of Na^+ homeostasis and tissue storage is still fragmented, this novel approach has made it possible to gain a considerable amount of knowledge in recent years. Tissue Na^+ content was previously found to be elevated, among others, in patients with lipodema [22], acute heart failure [11] or acute kidney disease [12] and chronic kidney disease [13]. In patients with refractory hypertension, women showed increased skin Na^+ content compared to controls, whereas men showed higher muscle Na^+ content compared to controls [9]. Increasing age further intensifies these differences in compartment distribution [17]. Additionally, sex differences have been described in a recent study [17]. In our study, we found higher skin and tibial bone Na^+ content in males. Although these findings are in line with previous studies for the skin, the tibial bone has not yet been described as a compartment for sodium storage/depletion in patients with normal renal function, as its overall sodium content is typically much lower than that in the muscle/skin.

4.2. Na^+ and Blood Pressure

The World Health Organization (WHO) recommends less than 2 g/day Na^+ in adults, and even lower doses in children [23]. As the actual mean daily intake of Na^+ is as high as 3.6 g/day in the US, UK, and Germany, we presume high salt intake also plays an important role in our study cohort [5]. Using questionnaires to semi-quantify the "salt appetite" of our participants, we did not observe any differences between the groups. However, to record the actual salt intake, complex measurements of nutritional composition would be required.

Salt-loading studies with salt-resistant subjects have shown that, during acute or chronic salt-loading, normotensive salt-resistant subjects do not excrete Na^+ faster, nor do they experience more blood volume expansion. Instead, they substantially retain Na^+ in a rhythmical manner, which is in line with our concept of relevant tissue Na^+ buffers [24,25]. Impairment of these buffer mechanisms in our "early disease stage" study could be an important contributor to the onset of arterial hypertension: while, in obese young patients without hypertension, Na^+ storage in the muscle (the largest previously described buffer compartment) is only slightly reduced, in those with hypertension we observed an accentuated reduction of Na^+ storage in muscle. In other compartments, such as the skin, tibial bone and subcutaneous fat, Na^+ did not show significant differences in hypertensive obese, excluding a potential Na^+ shift to those compartments nearby.

Previous studies observed salt-sensitivity in some individuals, which describes an increase in blood pressure as a response to increases in dietary Na^+ intake and vice versa [20,25,26]. In this context, the RAAS seems to be an important factor: it controls the vascular tone and—through Na^+ reabsorption—the intravascular volume homeostasis, as well as the heart rate, through Angiotensin II activation [2,27]. Presuming similar Na^+ intake in all groups, without a significant shift to other compartments, impaired muscle Na^+ storage in hypertensive obese can result in elevated Na^+ excretion through two major mechanisms: 1) altered RAAS suppression [28] and 2) pressure natriuresis as a regulatory response mechanism in salt-sensitive hypertensive subjects [29] through hypertension itself. Elevated heart rates in our cohort of hypertensive obese are in line with an overactivation of the sympathetic nervous system that has been described as an essential factor in the pathogenesis of obesity-induced hypertension in rabbits, dogs and humans [2].

In adults with long-term hypertension, recent reports suggest osmotically inactive Na^+ storage in the skin via negatively charged glycosaminoglycans as binding partners [18]. We found elevated skin Na^+ content in normotensive obese compared to normal-weight controls. However, these effects were not found in hypertensive obese. Therefore, no such conclusions can be made for skin Na^+ content in adolescents.

Before Na^+ transfers from the vascular system to tissue, there are two barriers to overcome: the negatively charged endothelial glycocalyx layer and the endothelial Na^+ channel ENaC [30]. Therefore, Na^+ homeostasis and salt sensitivity in arterial hypertension might be associated not only with a subnormal ability to excrete sodium load, but also with vascular endothelial dysfunction [24,27]. Whereas in patients with different stages of chronic kidney disease, salt restriction can reduce blood pressure [31], no controlled studies have been performed to demonstrate that hypertensive subjects excrete sodium more slowly and retain more of it than normotensive subjects.

One could, therefore, speculate whether regulatory mechanisms in adolescents are different from those observed in older patients. If the muscle, as a main Na^+ storage compartment, stores less, maintenance of blood sodium homeostasis will depend more on excretion and other storage compartments. This may reflect a compensatory mechanism at an early stage of the disease-preventing tissue Na^+ overload, and further research will be needed to investigate the hormonal cascades involved, as well as absolute Na^+ excretion, as plasma Na^+ needs to maintain stable.

4.3. Na^+ Homeostasis and Hyperinsulinism

Insulin alone has long been thought to cause Na^+ retention, with enough effects to contribute to arterial hypertension [32,33]. A study by Brands and colleagues showed that such Na^+ -retaining effects may be limited to uncontrolled Type II diabetes [32]. In 11 maintenance haemodialysis patients, higher muscle sodium content was, in a similar way, associated with insulin resistance [34]. Furthermore, in the soleus muscle of salt-sensitive hypertensive Dahl rats, the RAAS was shown to activate the NF- κ B pro-inflammatory pathway, inducing moderate hyperinsulinemia and insulin resistance [33]. A recent study also demonstrated a positive statistical correlation between Na^+ intake and insulin resistance in obese children and adolescents [35]. A majority (87.5%) of our disease cohort not only had hyperinsulinism, but were also showing a trend between HbA1c and blood pressure, even at this early stage of the disease.

Although the relation between obesity and hyper-caloric diets is known, the association between obesity and Na^+ still remains unclear, as the quantification of salt intake is measured highly subjectively, through questionnaires or food records, unless investigators have the unusual opportunity of controlling their subjects' nutrition completely, as done by Titze et al. in their space flight simulations [25]. In our study, we used salt questionnaires to assess the habits of salt intake and did not note any elevation of salt consumption or salty fast food craving in hypertensive or normotensive obese compared to our controls.

4.4. ^{23}Na -MRI

Due to its non-invasive nature, ^{23}Na -MRI is increasingly used in clinical research projects, even though it requires the use of specific non-proton coils and yields a certain complexity in image acquisition and post-processing [8–13,21].

Our study was performed at a 3 Tesla clinical scanner with a previously described measurement set-up [9,10]. A calibration curve using aqueous reference saline solutions was generated alongside to all scans, and 196 signal averages were applied to improve image homogeneity. We also determined intra- and inter-observer variability that did not show any significant differences between measurements. Compartments were assessed separately, as the total-cross-sectional Na^+ content (shown for completeness) can be prone to averaging artefacts when different tissue types are combined, and the effects of the largest storage compartments (the muscle) may dominate.

4.5. Limitations

Within this study, we did not perform interventions such as salt loading tests, and, furthermore, assessments of the RAAS and Na⁺ excretion were not part of the study protocol. As indicated by our findings, future prospective and longitudinal studies should further evaluate the impact of such interventions and assess the complex interplay of hormonal axes (including the RAAS), as well as their linkage to the inflammation and glucose/insulin metabolism, as this may be of high relevance in future treatment-planning strategies. Furthermore, and as already stated above, salt intake was not measured quantitatively.

Statistical power to assess differences in muscle sodium content between controls and hypertensive obese was 92%, however, it was 57% for differences between controls and normotensive obese, due to sample size and the large heterogeneity within normotensive obese. These findings may be of use for future study planning.

5. Clinical Outlook and Conclusions

In obese adolescents with hyperinsulinism, arterial hypertension occurs in the presence of low muscle tissue Na⁺ content, independent of the patient's BMI. These findings suggest a different regulation of muscle Na⁺ homeostasis and storage in early-onset obesity for hypertension compared to normotensive patients, adding a new perspective to salt-induced hypertension and salt sensitivity, if main storage compartments store less. The role of Na⁺ storage, salt sensitivity and insulin resistance in the initial stages of arterial hypertension, and the extent of the compensatory mechanisms that can become maladaptive at a later stage of the disease, as well as differences to isolated arterial hypertension in adults, remain to be further investigated in future clinical research.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2077-0383/8/12/2036/s1>, Figure S1: Na⁺ and water content in different tissues, Figure S2: Bland-Altman Plot illustrating the inter-observer variability in the post-processing of the ²³Na MRI data, Figure S3: Sex-specific tibial bone Na⁺.

Author Contributions: Conceptualization, T.K., D.N.M. and M.K.; Methodology, P.L., D.N.M., L.M.; Software, A.H.; Formal Analysis S.R., A.H., A.B., N.G., P.K., M.K.; Investigation, M.K., S.R.; Resources, T.K., F.B., S.W., S.K.; Data Curation, S.R.; Writing—Original Draft Preparation, S.R., M.K.; Writing—Review and Editing, T.K., A.J., S.W., S.K., F.B.; Visualization, M.K.; Supervision, T.K., F.B., S.W.; Project Administration, T.K., M.K.; Funding Acquisition, T.K., A.J., M.K. All authors read and approved the final manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work.

Funding: This study was partially funded by the European Commission under the FP7-ICT Program (Grant No: 600932, Brussels, Belgium). M.K. receives funding from the Berlin Institute of Health (BIH, Berlin, Germany) within the Digital Clinician Scientist Program (07/2019-07/2022).

Acknowledgments: We thank Alireza Khasheei for technical support and Anne Wölffel-Gale for editorial assistance.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Afshin, A.; Afshin, A.; Forouzanfar, M.H.; Reitsma, M.B.; Sur, P.; Estep, K.; Lee, A.; Marczak, L.; Mokdad, A.H.; Moradi-Lakeh, M.; et al. Health effects of overweight and obesity in 195 countries over 25 years. *N. Engl. J. Med.* **2017**, *377*, 13–27.
2. Hall, J.E.; da Silva, A.A.; do Carmo, J.M.; Dubinion, J.; Hamza, S.; Munusamy, S.; Smith, G.; Stec, D.E. Obesity-induced hypertension: Role of sympathetic nervous system, leptin, and melanocortins. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 17271–17276. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Tchkonja, T.; Thomou, T.; Zhu, Y.; Karagiannides, I.; Pothoulakis, C.; Jensen, M.D.; Kirkland, J.L. Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. *Cell Metab.* **2013**, *17*, 644–656. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

4. Malta, D.; Petersen, K.S.; Johnson, C.; Trieu, K.; Rae, S.; Jefferson, K.; Santos, J.A.; Wong, M.M.Y.; Raj, T.S.; Webster, J.; et al. High sodium intake increases blood pressure and risk of kidney disease. From the Science of Salt: A regularly updated systematic review of salt and health outcomes (August 2016 to March 2017). *J. Clin. Hypertens.* **2018**, *20*, 1654–1665. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Mozaffarian, D.; Fahimi, S.; Singh, G.M.; Micha, R.; Khatibzadeh, S.; Engell, R.E.; Lim, S.; Danaei, G.; Ezzati, M.; Powles, J. Global sodium consumption and death from cardiovascular causes. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 624–634. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. He, J.; Ogden, L.G.; Vupputuri, S.; Bazzano, L.A.; Loria, C.; Whelton, P.K. Dietary sodium intake and subsequent risk of cardiovascular disease in overweight adults. *Jama* **1999**, *282*, 2027–2034. [[CrossRef](#)]
7. Lerchl, K.; Lerchl, K.; Rakova, N.; Dahlmann, A.; Rauh, M.; Goller, U.; Basner, M.; Dinges, D.F.; Beck, L.; Agureev, A.; et al. Agreement between 24-hour salt ingestion and sodium excretion in a controlled environment. *Hypertension* **2015**, *66*, 850–857. [[CrossRef](#)]
8. Kopp, C.; Linz, P.; Wachsmuth, L.; Dahlmann, A.; Horbach, T.; Schofl, C.; Renz, W.; Santoro, D.; Niendorf, T.; Muller, D.N.; et al. ²³Na magnetic resonance imaging of tissue sodium. *Hypertension* **2012**, *59*, 167–172. [[CrossRef](#)]
9. Kopp, C.; Linz, P.; Dahlmann, A.; Hammon, M.; Jantsch, J.; Muller, D.N.; Schmieder, R.E.; Cavallaro, A.; Eckardt, K.U.; Uder, M.; et al. ²³Na magnetic resonance imaging-determined tissue sodium in healthy subjects and hypertensive patients. *Hypertension* **2013**, *61*, 635–640. [[CrossRef](#)]
10. Dahlmann, A.; Dorfelt, K.; Eicher, F.; Linz, P.; Kopp, C.; Mossinger, I.; Horn, S.; Buschges-Seraphin, B.; Wabel, P.; Hammon, M.; et al. Magnetic resonance-determined sodium removal from tissue stores in hemodialysis patients. *Kidney Int.* **2015**, *87*, 434–441. [[CrossRef](#)]
11. Hammon, M.; Grossmann, S.; Linz, P.; Kopp, C.; Dahlmann, A.; Garlichs, C.; Janka, R.; Cavallaro, A.; Luft, F.C.; Uder, M.; et al. ²³Na magnetic resonance imaging of the lower leg of acute heart failure patients during diuretic treatment. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0141336. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Hammon, M.; Grossmann, S.; Linz, P.; Kopp, C.; Dahlmann, A.; Garlichs, C.; Janka, R.; Cavallaro, A.; Luft, F.C.; Uder, M.; et al. 3 Tesla ²³Na magnetic resonance imaging during acute kidney injury. *Acad. Radiol.* **2017**, *24*, 1086–1093. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Schneider, M.P.; Raff, U.; Kopp, C.; Scheppach, J.B.; Toncar, S.; Wanner, C.; Schlieper, G.; Saritas, T.; Floege, J.; Schmid, M.; et al. Skin sodium concentration correlates with left ventricular hypertrophy in CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2017**, *28*, 1867–1876. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Kromeyer-Hauschild, K.; Wabitsch, M.; Kunze, D.; Geller, F.; Geiß, H.C.; Hesse, V.; von Hippel, A.; Jaeger, U.; Johnsen, D.; Korte, W.; et al. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Mon. Kinderheilkd.* **2001**, *149*, 807–818. [[CrossRef](#)]
15. Flynn, J.T.; Kaelber, D.C.; Baker-Smith, C.M.; Blowey, D.; Carroll, A.E.; Daniels, S.R.; de Ferranti, S.D.; Dionne, J.M.; Falkner, B.; Flinn, S.K.; et al. Clinical practice guideline for screening and management of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* **2017**, *140*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Neuhauser, H.K.; Thamm, M.; Ellert, U.; Hense, H.W.; Rosario, A.S. Blood pressure percentiles by age and height from nonoverweight children and adolescents in Germany. *Pediatrics* **2011**, *127*, e978–e988. [[CrossRef](#)]
17. Wang, P.; Deger, M.S.; Kang, H.; Ikizler, T.A.; Titze, J.; Gore, J.C. Sex differences in sodium deposition in human muscle and skin. *Magn. Reson. Imaging* **2017**, *36*, 93–97. [[CrossRef](#)]
18. Machnik, A.; Neuhofer, W.; Jantsch, J.; Dahlmann, A.; Tammela, T.; Machura, K.; Park, J.K.; Beck, F.X.; Muller, D.N.; Derer, W.; et al. Macrophages regulate salt-dependent volume and blood pressure by a vascular endothelial growth factor-C-dependent buffering mechanism. *Nat. Med.* **2009**, *15*, 545–552. [[CrossRef](#)]
19. Kopp, C.; Linz, P.; Maier, C.; Wabel, P.; Hammon, M.; Nagel, A.M.; Rosenhauer, D.; Horn, S.; Uder, M.; Luft, F.C.; et al. Elevated tissue sodium deposition in patients with type 2 diabetes on hemodialysis detected by ²³Na magnetic resonance imaging. *Kidney Int.* **2018**, *93*, 1191–1197. [[CrossRef](#)]
20. GenSaltGroup. GenSalt: Rationale, design, methods and baseline characteristics of study participants. *J. Hum. Hypertens.* **2007**, *21*, 639–646. [[CrossRef](#)]
21. Kopp, C.; Beyer, C.; Linz, P.; Dahlmann, A.; Hammon, M.; Jantsch, J.; Neubert, P.; Rosenhauer, D.; Muller, D.N.; Cavallaro, A.; et al. Na⁺ deposition in the fibrotic skin of systemic sclerosis patients detected by ²³Na-magnetic resonance imaging. *Rheumatology* **2017**, *56*, 674. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

22. Crescenzi, R.; Marton, A.; Donahue, P.M.C.; Mahany, H.B.; Lants, S.K.; Wang, P.; Beckman, J.A.; Donahue, M.J.; Titze, J. Tissue sodium content is elevated in the skin and subcutaneous adipose tissue in women with lipedema. *Obesity* **2017**, *26*, 310–317. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. WHO. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. In *Guideline: Sodium Intake for Adults and Children*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2012.
24. Kurtz, T.W.; DiCarlo, S.E.; Pravenec, M.; Schmidlin, O.; Tanaka, M.; Morris, R.C., Jr. An alternative hypothesis to the widely held view that renal excretion of sodium accounts for resistance to salt-induced hypertension. *Kidney Int.* **2016**, *90*, 965–973. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Rakova, N.; Rakova, N.; Juttner, K.; Dahlmann, A.; Schroder, A.; Linz, P.; Kopp, C.; Rauh, M.; Goller, U.; Beck, L.; et al. Long-term space flight simulation reveals infradian rhythmicity in human Na(+) balance. *Cell Metab.* **2013**, *17*, 125–131. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Wilck, N.; Matus, M.G.; Kearney, S.M.; Olesen, S.W.; Forslund, K.; Bartolomaeus, H.; Haase, S.; Mahler, A.; Balogh, A.; Marko, L.; et al. Salt-responsive gut commensal modulates TH17 axis and disease. *Nature* **2017**, *551*, 585–589. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Freitas, S.R.S. Molecular genetics of salt-sensitivity and hypertension: role of renal epithelial sodium channel genes. *Am. J. Hypertens.* **2017**, *31*, 172–174. [[CrossRef](#)]
28. Yatabe, M.S.; Yatabe, J.; Yoneda, M.; Watanabe, T.; Otsuki, M.; Felder, R.A.; Jose, P.A.; Sanada, H. Salt sensitivity is associated with insulin resistance, sympathetic overactivity, and decreased suppression of circulating renin activity in lean patients with essential hypertension. *Am. J. Clin. Nutr.* **2010**, *92*, 77–82. [[CrossRef](#)]
29. Eljovitch, F.; Weinberger, M.H.; Anderson, C.A.; Appel, L.J.; Bursztyn, M.; Cook, N.R.; Dart, R.A.; Newton-Cheh, C.H.; Sacks, F.M.; Laffer, C.L.; et al. Salt sensitivity of blood pressure: A scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension* **2016**, *68*, e7–e46. [[CrossRef](#)]
30. Oberleithner, H. Two barriers for sodium in vascular endothelium? *Ann. Med.* **2012**, *44*, S143–S148. [[CrossRef](#)]
31. Garofalo, C.; Borrelli, S.; Provenzano, M.; De Stefano, T.; Vita, C.; Chiodini, P.; Minutolo, R.; De Nicola, L.; Conte, G. Dietary salt restriction in chronic kidney disease: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Nutrients* **2018**, *10*, 732. [[CrossRef](#)]
32. Brands, M.W.; Manhiani, M.M. Sodium-retaining effect of insulin in diabetes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2012**, *303*, R1101–R1109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Zhou, M.S.; Liu, C.; Tian, R.; Nishiyama, A.; Raji, L. Skeletal muscle insulin resistance in salt-sensitive hypertension: Role of angiotensin II activation of NFkappaB. *Cardiovasc. Diabetol.* **2015**, *14*, 45. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Deger, S.M.; Wang, P.; Fissell, R.; Ellis, C.D.; Booker, C.; Sha, F.; Morse, J.L.; Stewart, T.G.; Gore, J.C.; Siew, E.D.; et al. Tissue sodium accumulation and peripheral insulin sensitivity in maintenance hemodialysis patients. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* **2017**, *8*, 500–507. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Han, S.Y.; Kim, N.H.; Kim, D.H.; Han, K.; Kim, S.M. Relationship between urinary sodium-creatinine ratios and insulin resistance in Korean children and adolescents with obesity. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* **2018**, *31*, 375–383. [[CrossRef](#)]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

12. Lebenslauf

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

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

13. Publikationsliste

Originalarbeiten in Zeitschriften mit peer-reviewed Verfahren:

- **Roth S**, Marko L, Birukov A, Hennemuth A, Kuhnen P, Jones A, Ghorbani N, Linz P, Muller DN, Wiegand S, Berger F, Kuehne T, Kelm M. Tissue Sodium Content and Arterial Hypertension in Obese Adolescents. *J Clin Med.* 2019;8(12). – **Impact Factor: 5.688**
<https://doi.org/10.3390/jcm8122036>
- Ghorbani N, Muthurangu V, Khushnood A, Goubergrits L, Nordmeyer S, Fernandes JF, Lee CB, Runte K, **Roth S**, Schubert S, Kelle S, Berger F, Kuehne T, Kelm M. Impact of valve morphology, hypertension and age on aortic wall properties in patients with coarctation: a two-centre cross-sectional study. *BMJ Open.* 2020;10(3):e034853. – **Impact Factor: 2.496**
<https://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2019-034853>

Publizierte Abstracts und Poster:

- Kelm M, **Roth S**, Marko L, Bickenbach A, Kühnen P, Wiegand S, Müller D, Kelle S, Linz P, Berger F, Kuehne T. „²³Na MRI Reveals Altered Levels of Tissue Sodium Concentrations in Obese Teenagers“ *CMR (2018)* – Abstract, Poster und Präsentation

14. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich von ganzem Herzen bei allen bedanken, die mich im Entstehungsprozess meiner Dissertation begleitet und unterstützt haben.

Mein Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. med. Titus Kühne, für die Überlassung des Dissertationsthemas, die wissenschaftliche Betreuung an seinem Institut und das entgegengebrachte Vertrauen in meine Arbeit.

Darüber hinaus gilt mein ausdrücklicher Dank meinem Betreuer, Herrn Dr. Marcus Kelm, für seine unermüdliche Geduld und konstruktive Kritik ebenso wie für seine unablässige Erreichbarkeit. Außerdem bedanke ich mich bei Herrn Lajos Markó für die geduldige Einarbeitung und bei Herrn Prof. Dr. Dominik Müller für die interdisziplinäre Beratung in Hinblick auf die angewandte Methodik. Ebenso gilt mein Dank Alireza Khasheei für seine tatkräftige Unterstützung bei außerplanmäßigen MRT-Terminen sowie allen Kollegen der AG und des Max-Dellbrück-Centrums, die durch den wissenschaftlichen Austausch stets neue Inspiration und frische Ideen beisteuern konnten.

Meinen Mitdoktoranden und Freunden Niky Ghorbani und Chong-Bin Lee möchte ich für all den wissenschaftlichen und persönlichen Beistand danken. Außerdem danke ich Andrés Sánchez und Michaela Jacob für die richtigen Worte zur richtigen Stelle, die geduldige kreative Hilfe und den unerschütterlichen Glauben an mich.

Mein besonderer Dank gebührt meinen Eltern und meinem Bruder für ihre bedingungslose Unterstützung und liebevolle Motivation auf meinem Lebensweg.