

NaCl und Makrophagen

Wie Kochsalz Mitochondrien beeinflusst

SABRINA GEISBERGER

MAX-DELBRÜCK-CENTER FÜR MOLEKULARE MEDIZIN, BERLIN

Dietary high salt (HS) is a major risk factor for cardio-vascular and chronic inflammatory diseases. Sodium can increase postprandially but can also accumulate in diverse tissues. Immune cells, such as macrophages, sense this salty environment and adapt accordingly, shifting towards a more pro-inflammatory state. Mechanistically, HS inhibits complex II of the electron transport chain and thereby reduces mitochondrial function. In two independent clinical studies, an HS-diet transiently impaired human monocyctic mitochondrial function.

DOI: 10.1007/s12268-022-1781-y
© Die Autorin 2022

■ Immunzellen sind in der Lage, ihren Stoffwechsel in Abhängigkeit von der Mikroumgebung, in der sie sich befinden, zu regulieren, um so ihre Funktion korrekt erfüllen zu können. Ein wichtiger Parameter der lokalen Mikroumgebung ist Natrium, welches das wichtigste Kation des extrazellulären Raums ist. Es spielt eine Schlüsselrolle bei der Flüssigkeitshomöostase des Körpers, der Wasserretention, der Signalübertragung in Muskeln und Neuronen und ist am Transport von Nährstoffen, Elementen, Osmolyten und Neurotransmittern über Zellmembranen beteiligt. Speisesalz (NaCl) ist die wichtigste Quelle für die Aufnahme von Natrium. Die menschliche Ernährung hat sich jedoch im Laufe der Jahre stark verändert und der Salzkonsum ist erheblich gestiegen, sodass heutzutage in den westlichen Ländern oft 10 g Salz pro Tag aufgenommen werden. Dieser hohe Salzkonsum wird mit erhöhtem Blutdruck und einem gesteigerten Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Verbindung gebracht, die auf erhöhte Wassereinlagerungen, Endorganschäden an Blutgefäßen, Nieren und Herz, oxidativen Stress und hormonelle Veränderungen zurückzuführen sind [1]. Außerdem werden auch das Immunsystem und das Mikrobiom durch einen erhöhten Salzkonsum beeinträchtigt, was zu einem gesteigerten Risiko und einer Verschlimme-

rung chronisch-entzündlicher Autoimmunerkrankungen, wie rheumatoider Arthritis oder Multipler Sklerose [2], sowie zu Veränderungen der bakteriellen Zusammensetzung im Darm führt [3].

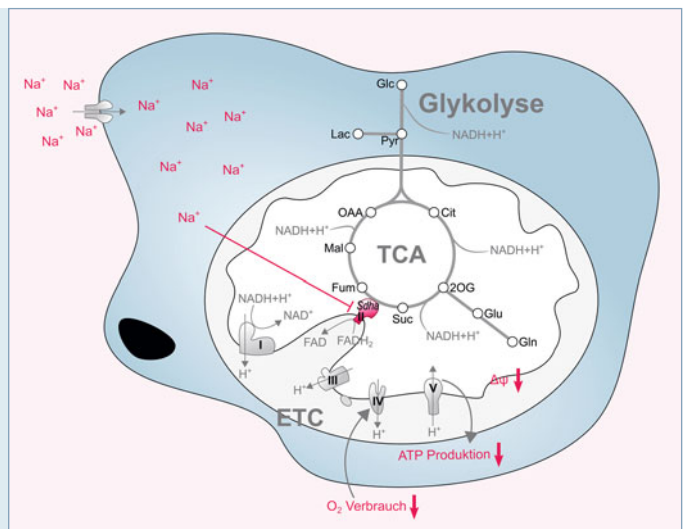
Nach einer salzigen Mahlzeit steigt das Natrium im Serum vorübergehend an [4]. Interessanterweise kann es sich aber auch in Geweben anreichern, wie Haut, Muskel oder Gehirn. Diese Anreicherung nimmt mit erhöhtem Salzkonsum, zunehmendem Alter und lokalen Entzündungen zu. Es hat sich gezeigt, dass Immunzellen, insbesondere

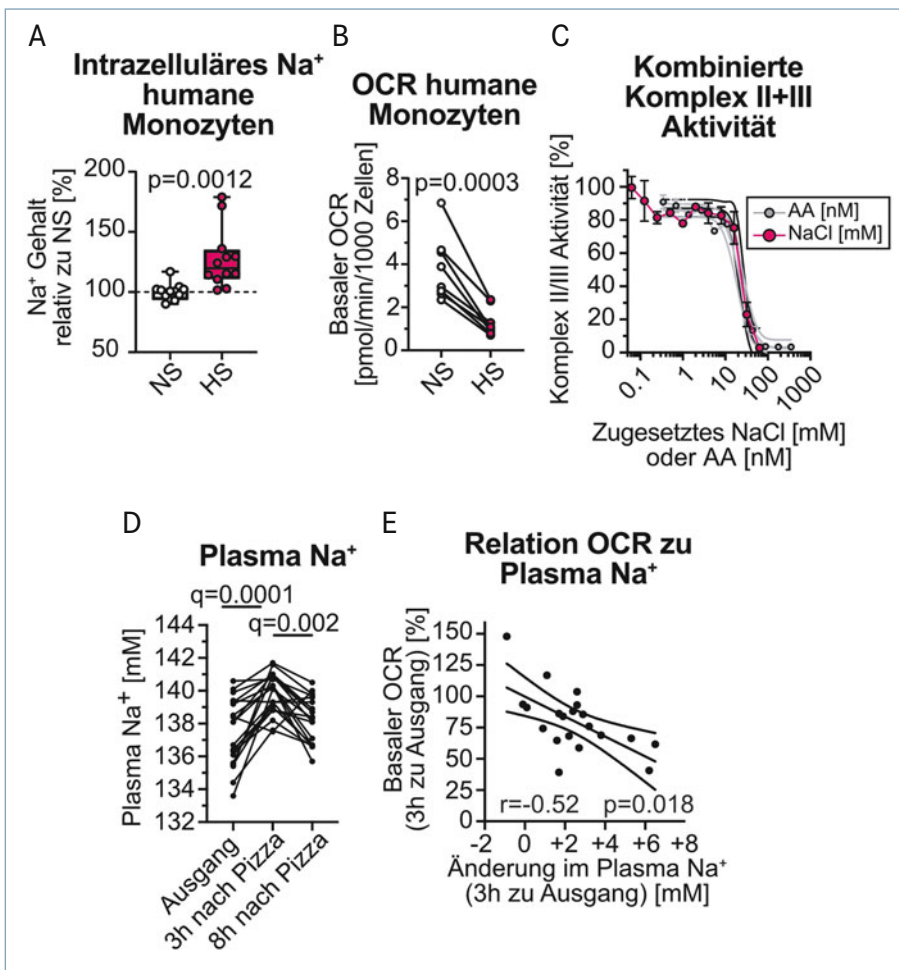
Makrophagen, bevorzugt in diese salzhaltigen Gewebe einwandern [5, 6].

Makrophagen: salzsensitive Immunzellen

Makrophagen sind eine heterogene Population von Immunzellen des angeborenen Immunsystems. Sie erfüllen eine Vielzahl sehr unterschiedlicher Funktionen, da sie in der Lage sind, ihr Transkriptions-, Stoffwechsel- und Funktionsprofil zu ändern – ein Prozess, der als Aktivierung bzw. Polarisierung bezeichnet wird. Die Extreme dieses Aktivierungsspektrums sind die klassischen, proinflammatorischen M1-Makrophagen und die alternativen, antiinflammatorischen M2-Makrophagen [7]. Wenn Makrophagen unter Hochsalz(HS)-Bedingungen aktiviert werden, verschieben sie sich in Richtung eines eher proinflammatorischen Phänotyps. Einerseits exprimieren M1-Makrophagen mehr ihrer Markergene, wie *Nos2*, und sind in der Lage, Parasiten und Bakterien effizienter abzutöten [5, 8]. Andererseits exprimieren M2-Makrophagen geringere Mengen ihrer Markergene, wie *Retnla1*, dafür aber mehr entzündungsfördernde Gene, wie *Cox2*. Außerdem werden sie in ihrer Funktion der Regulierung anderer Immunzellen gehemmt, wie der T-Zell-Proliferationsinhibition [8, 9].

► **Abb. 1:** Salzregulation des mitochondrialen Stoffwechsels. Natrium hemmt den Komplex II der Atmungskette (ETC), wodurch der Sauerstoffverbrauch (oxygen consumption rate, OCR), das Membranpotenzial ($\Delta\psi$) und die ATP-Produktion abnehmen. Makrophagen verändern daraufhin ihre Genexpression und Funktion und werden proinflammatorischer.





▲ **Abb. 2:** **A**, Intrazelluläres Natrium und **B**, Sauerstoffverbrauch (basaler OCR, *oxygen consumption rate*) in *in vitro* behandelten humanen Monozyten unter Normalsalz (NS) und Hochsalz (HS). **C**, kombinierte Komplex II+III Aktivität in isolierten Mitochondrien unter Zugabe von NaCl oder Antimycin A (AA), relativ zu unbehandelten Mitochondrien. **D**, Plasmanatrium und **E**, damit korrelierender basaler OCR von Monozyten vor und nach einer Pizza. Daten aus [8].

Mechanismus der salzabhängigen Stoffwechselregulation

Ein wichtiger Faktor bei der Aktivierung von Immunzellen ist der Stoffwechsel. Je nach Bedarf passen Immunzellen ihren Stoffwechsel an, indem sie – z. B. im Fall von M1-Makrophagen – bevorzugt anaerobe Glykolyse oder – im Fall von M2-Makrophagen – Fettsäureoxidation und oxidative Phosphorylierung nutzen. So können Immunzellen gezielt ihren Energiebedarf decken, gleichzeitig aber Stoffwechselwege und -intermediate umfunktionieren. Ein Beispiel dafür ist der Krebszyklus (*tricarboxylic acid* (TCA)-Zyklus), den M1-Makrophagen nicht dazu nutzen, um NADH + H⁺ zur Energiegewinnung zu produzieren. Anstelle dessen sind Metabolite wie Oxaloacetat, Succinat und Citrat wichtig für die Produktion von Stickoxid, Sauerstoffradikalen, Prostaglandinen oder auch für die Induktion proinflammato-

rischer Gene [7]. Aber auch das Gegenteil ist der Fall und Stoffwechselveränderungen können sich auf den Phänotyp einer Immunzelle auswirken. Daher interessierte uns, ob eine HS-Umgebung den zentralen Kohlenstoffstoffwechsel in Makrophagen beeinflusst und dadurch möglicherweise Veränderungen in ihrer Aktivierung vermittelt. Wir führten eine Reihe metabolischer Analysen an murinen und humanen Monozyten und Makrophagen durch, welche mit LPS ± IFN γ (M1) oder IL4 ± IL13 (M2) unter Normalsalz- und HS-Bedingungen aktiviert wurden. Wir fanden heraus, dass die HS-Behandlung den mitochondrialen Sauerstoffverbrauch (*oxygen consumption rate*, OCR) verringerte, welcher für die Erzeugung von ATP während der oxidativen Phosphorylierung benötigt wird. Auch das mitochondriale Membranpotenzial ($\Delta\psi$) und der zelluläre ATP-Gehalt waren reduziert, was auf eine mitochondriale Dys-

funktion unter HS-Bedingungen schließen lässt (**Abb. 1**). Durch gepulste Fütterung der Zellen mit isotonenmarkierten Nährstoffen konnten wir diesen Prozess weiter aufschlüsseln. Wir fanden heraus, dass HS spezifisch die Umwandlung von Succinat zu Fumarat durch den Komplex II der mitochondrialen Elektronentransportkette (*electron transport chain*, ETC) reduzierte, während es keine Auswirkungen auf die Glykolyse oder andere mitochondriale Komplexe der ETC hatte. Um nachzuweisen, dass diese mitochondriale Dysfunktion ursächlich für die Aktivierungs- und Funktionsunterschiede in HS-behandelten Makrophagen war, verwendeten wir pharmakologische Inhibitoren der ETC unter Normalsalzbedingungen. Sowohl eine spezifische Komplex-II-Hemmung als auch eine mitochondriale Depolarisation konnten die Transkriptionsveränderungen, die unter HS-Bedingungen auftraten, imitieren. Außerdem töteten M1-Makrophagen *E. coli*-Bakterien besser ab, wenn ihre innere mitochondriale Membran depolarisiert war. Diese Daten belegen, dass die mitochondriale Dysfunktion unter HS zumindest teilweise für die veränderte Aktivierung von Makrophagen verantwortlich ist [8].

In einem translationalen Ansatz untersuchten wir, ob eine salzhaltige Ernährung den mitochondrialen Stoffwechsel von Monozyten aus peripherem Blut *in vivo* in ähnlicher Weise beeinflussen würde. Wir führten zwei klinische Studien durch, bei denen die Teilnehmer entweder eine chronische HS-Diät über 14 Tage oder eine einzelne HS-Mahlzeit zu sich nahmen. In beiden Studien stieg der Plasmanatriumspiegel innerhalb des physiologischen Bereichs zwischen 2 und 4 mM an. Interessanterweise führten bereits diese kleinen, aber signifikanten Veränderungen zu einer Abnahme des mitochondrialen OCR isolierter Monozyten. Diese verringerte mitochondriale Funktion war jedoch transient und kehrte zu den ursprünglichen Werten zurück, sobald sich das Plasmanatrium wieder erholte (**Abb. 2**, [8]).

Ausblick

Unsere Daten unterstreichen die Bedeutung eines erhöhten Salzkonsums für den Stoffwechsel von Immunzellen, aber auch die schnelle Flexibilität des letzteren. Wir konnten die Störung der mitochondrialen Atmung als einen der ersten Schritte identifizieren, durch den HS die Funktion von Immunzellen beeinflusst. Dies ist jedoch nur der Anfang. Die Salzsensitivität anderer Zelltypen (z. B.

anderer Immunzellen, Endothelzellen des Gefäßsystems, Epithelzellen des Darmtrakts) und inter- und intraindividuelle Unterschiede bei der Salzantwort müssen in künftigen Studien untersucht werden. Frühere Studien zeigten bereits, dass auch andere Immunzellen, wie T_H17 , T_H2 oder $FOXP3^+$ regulatorische T-Zellen, durch HS reguliert werden [10]. Des Weiteren gibt es Berichte darüber, dass einfließendes Natrium für die abgeschwächte Mitochondrienfunktion in Herzmuskelgewebe [11] und Endothelzellen [12] im Rahmen einer Hypoxie verantwortlich ist. Dies deutet auf ein weites Feld der natriumabhängigen Stoffwechselregulation hin, welches noch größtenteils unerforscht ist. Darüber hinaus konnten wir und andere Arbeitsgruppen *in vitro* eine HS-abhängige Verschiebung in Richtung Proinflammation nachweisen [8, 10]; aber wie sich dies auf die menschliche Physiologie und Pathophysiologie auswirkt, muss noch geklärt werden. ■

Literatur

- [1] Jacques DA, Wuerzner G, Ponte B (2021) Sodium intake as a cardiovascular risk factor: a narrative review. *Nutrients* 13: 3177
- [2] Sharifa K, Amitala H, Shoenfeld Y (2018) The role of dietary sodium in autoimmune diseases: the salty truth. *Autoimmun Rev* 17: 1069–1073
- [3] Wilck N, Matus MG, Kearney SM et al. (2017) Salt-responsive gut commensal modulates $TH17$ axis and disease. *Nature* 551: 585–589
- [4] Suckling RJ, He FJ, Markandu ND et al. (2012) Dietary salt influences postprandial

plasma sodium concentration and systolic blood pressure. *Kidney Int* 81: 407–411

[5] Jantsch J, Schatz V, Friedrich D et al. (2015) Cutaneous Na^+ storage strengthens the antimicrobial barrier function of the skin and boosts macrophage-driven host defense. *Cell Metab* 21: 493–501

[6] Machnik A, Neuhofer W, Jantsch J et al. (2009) Macrophages regulate salt-dependent volume and blood pressure by a vascular endothelial growth factor-C-dependent buffering mechanism. *Nature Med* 15: 545–552

[7] Viola A, Munari F, Sanchez-Rodriguez R et al. (2019) The metabolic signature of macrophage responses. *Front Immunol* 10: 1462

[8] Geisberger S, Bartolomaeus H, Neubert P et al. (2021) Salt transiently inhibits mitochondrial energetics in mononuclear phagocytes. *Circulation* 144: 144–158

[9] Binger KJ, Gebhardt M, Heinig M et al. (2015) High salt reduces the activation of IL-4- and IL-13-stimulated macrophages. *J Clin Invest* 125: 4223–4238

[10] Wilck N, Balogh A, Marko L et al. (2019) The role of sodium in modulating immune cell function. *Nat Rev Nephrol* 5: 546–558

[11] Tanonaka K, Motegi K, Arino T et al. (2012) Possible pathway of Na^+ flux into mitochondria in ischemic heart. *Biol Pharm Bull* 35: 1661–1668

[12] Hernansanz-Agustin P, Choya-Foces C, Carregal-Romero S et al. (2020). Na^+ controls hypoxic signalling by the mitochondrial respiratory chain. *Nature* 586: 287–291

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Dr. Sabrina Geisberger
 Max-Delbrück-Center für Molekulare Medizin
 Berlin Institute for Medical Systems Biology
 Integrative Proteomics and Metabolomics
 Hannoversche Straße 28
 D-10115 Berlin
sabrina.geisberger@mdc-berlin.de

AUTORIN



Sabrina Geisberger

2009–2014 Studium der Molekularen Medizin an der Universität Erlangen-Nürnberg.
 2015–2020 Promotion an der FU Berlin im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie über den Einfluss von Salz auf den Stoffwechsel von Makrophagen in der Arbeitsgruppe von Dr. D. Müller am Experimental and Clinical Research Center Berlin. Seit 2020 Postdoktorandin in der Arbeitsgruppe von Dr. S. Kempa am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Mitte (BIMSB).

Hier steht
eine Anzeige.

 Springer