

A fraktalkin – CX3CR1 szignalizáció szerepe az elhízásban

Polyák Ágnes

A PhD disszertáció tézisei



Pázmány Péter Katolikus Egyetem

Információs Technológiai és Bionikai Kar

Roska Tamás Műszaki és Természettudományi Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Kovács Krisztina

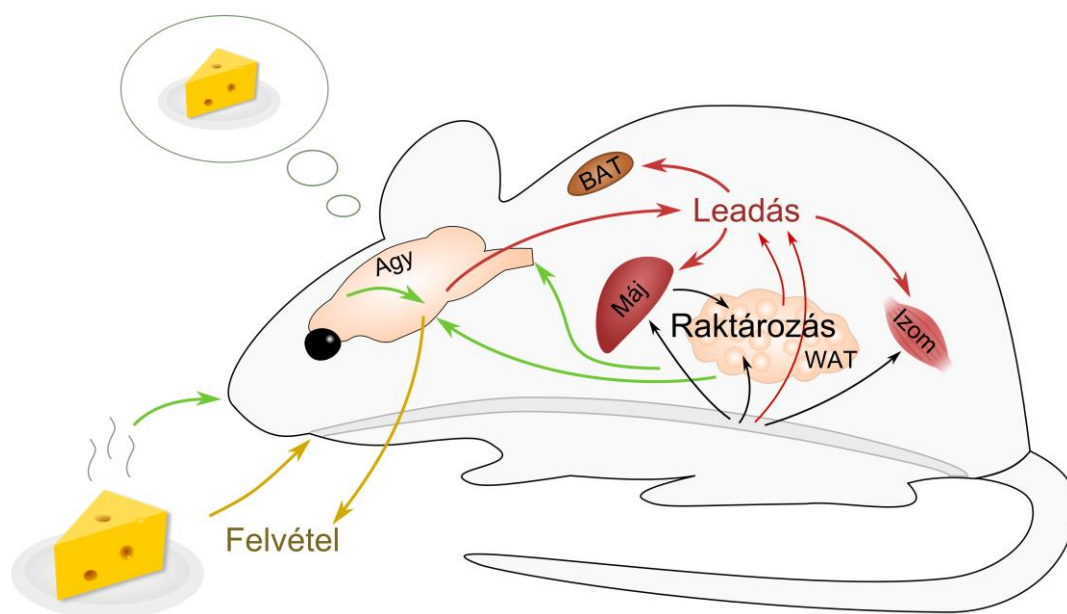
Budapest, 2017

Bevezetés

A túlsúly és az elhízás abnormális vagy túlzott zsírfelhalmozódást jelent, ami károsíthatja az egészséget. Az elhízás minden szocioökonómiai háttérű és etnikumú embert érint, és a metabolikus szindróma „előszobájának” tekinthető. A metabolikus szindróma egyes rizikófaktorok csoportja (úgy, mint centrális elhízás, inzulin rezisztencia, diszlipidémia, és magas vérnyomás), melyek együttes jelenléte kettes típusú cukorbetegséghez és kardiovaszkuláris betegségekhez vezethet [1].

A túlsúlyt és az elhízást krónikus, alacsony szintű gyulladás jellemzi. Ez a gyulladásos állapot fontos szerepet játszik a metabolikus szindróma etiológiájában, és nagyban hozzájárul a kapcsolódó patológiás kimenetekhez [2].

A túlsúly és az elhízás alapvető oka a bevitt és elhasznált kalóriák közötti egyensúly felborulása [3]. A bevitt energia fizikai aktivitás, alap metabolizmus, és adaptív hőtermelés formájában távozik, vagy a zsírszövetben tárolódik. Az energia homeosztázis szabályozása az 1. ábrán látható.



1. ábra: az energia homeosztázis összetevői

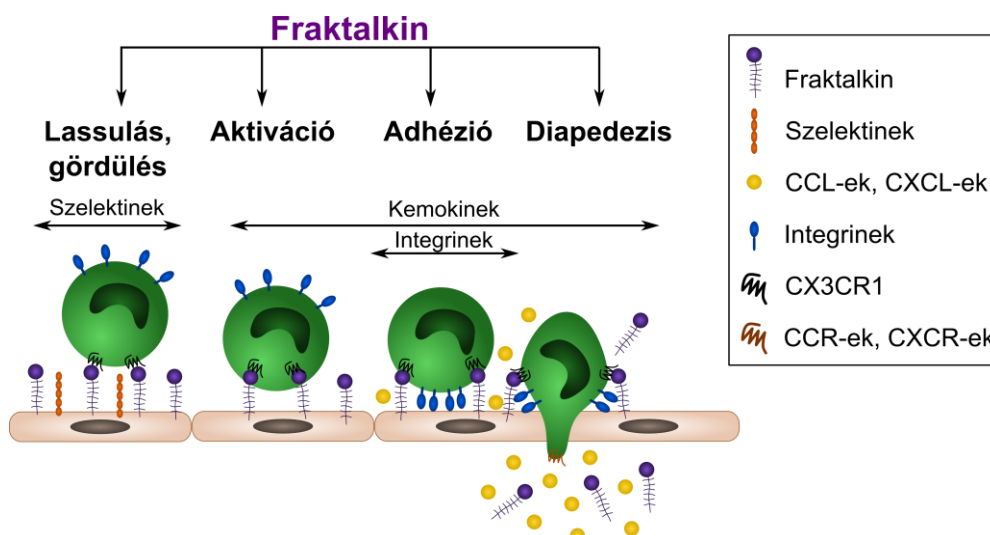
Az energiefelvételt (sárga nyilak) és leadást (piros nyilak) a központi idegrendszer szabályozza külső és belső ingerek alapján (zöld nyilak). Az alapanyagcserehez, a fizikai aktivitáshoz és a hőtermeléshez használt energiaforrások a bevitt tápanyagokból erednek. A fel nem használt energia a zsírszövetben, májban és izmokban tárolódik (fekete nyilak). BAT – barna zsírszövet, WAT – fehér zsírszövet.

Két, különböző funkcióval rendelkező zsírszövet létezik, a fehér és a barna zsír. A fehér zsírban trigliceridek formájában tárolódik az energia felesleg, mely - adipokinek és citokinek termelésével - endokrin funkciókat is ellát [4-6]. A barna zsírszövet fontos szerepet játszik a hideg-, stressz-, és étrend indukálta hőtermelésben, mellyel jelentősen befolyásolja a szisztémás szénhidrát- és zsíryanycserét [7-9]. A régebbi állításokkal szemben Nedergaard és munkatársai 2007-ben igazolták, hogy felnőtt emberekben is található aktív barna zsírszövet (Nedergaard, Bengtsson et al. 2007). A barna zsírszövet mennyisége fordítottan arányos a testtömegindexszel, különösen időseknél (Cypess, Lehman et al. 2009), ráadásul elhízott vagy cukorbeteg személyekben a metabolikusan aktív barna zsírszövet jelentősen csökken (Bartelt and Heeren 2014). A legfrissebb kutatások szerint tehát emberekben is jelentős metabolikus szerepe van a barna zsírszövetnek, így működésének befolyásolása megfelelő terápiás célpont lehet az elhízás elleni küzdelemben.

A barna zsírsejtek több, kisebb lipidcseppet, és sok mitokondriumot tartalmaznak, szemben a fehér zsírsejtekkel, ahol egy nagy zsírcsepp és kevés mitokondrium található (Harms and Seale 2013). A barna zsírsejtek a tárolt energia hővé történő átalakítására specializált sejtek. Ez a folyamat a szétkapcsoló fehérje (uncoupling protein 1, UCP1) segítségével történik, mely a mitokondriális elektrontranszportláncot megszakítva hőtermelést eredményez.

A zsírszövetekben immunsejtek is találhatóak, mint például szöveti makrofágok, eozinofilok, hízósejtek, T-sejtek, melyek citokin- és transzmitter termelésükkel jelentősen hozzájárulnak a szövet funkciójához [10-13]. Elhízáskor a zsírszövet növekedése serkenti az immunsejtek szövetbe áramlását, és a proinflammatorikus citokinek termelését, ami hozzájárul krónikus, alacsony szintű gyulladás kialakulásához [14]. A legfrissebb kutatások szerint a szöveti gyulladás nem korlátozódik a vizsцерális fehér zsírszövetre, hanem a máj és a hipotalamusz is érintett [15]. Az említett szövetekben az étrend indukálta gyulladás minden esetben együtt jár különböző immunsejtek (monociták, makrofágok, T-sejtek) toborzásával, proliferációjával és aktivációjával. Az immunsejtek szövetbe áramlásának mechanizmusa azonban nem teljesen tisztázott folyamat.

A monociták, makrofágok vándorlása komplex folyamat, melyben sok molekula vesz részt [16]. Az egyik ilyen molekula a fraktalkin, aminek kritikus szerepe lehet, mivel adhéziós-, és kemotaktikus tulajdonságai révén a vándorlás több lépésében is szerepet játszik (2. ábra).



2. ábra: A fraktalkin mediálta adhéziós kaszkád sematikus modelje

A fehérvérsejtek extravazációja több lépéses folyamat, melyben több molekula is részt vesz. A modell szerint a fraktalkin több lépésben is szerepet játszik. Membránkötött formában az endotél sejteken segíti a fraktalkin receptort expresszáló fehérvérsejtek megtapadását és kilépését az érből, kemokinként szolubilis formában pedig a koncentráció gradiensnek megfelelő vándorlásukat irányítja [17].

A fraktalkint endotél sejtek, vaszkuláris simaizomsejtek, májsejtek, zsírsejtek, idegsejtek, míg a receptorát (CX3CR1) különböző immunsejtek (monociták, makrofágok, mikroglia) termelik [18, 19]. A fraktalkin – CX3CR1 szignalizáció szerepe a kardiovaszkuláris betegségekben (pl. ateroszklerózis), reumatoid artritiszben, rákban széleskörűen tanulmányozott [20, 21], és bár a fraktalkint új adipocitokinként határozták meg a fehér zsírszövetben, és elhízott emberekben magas expressziót mutat [22], szerepe az elhízás folyamatában nem tisztázott.

A kutatási céljaim az alábbiak voltak:

- a fraktalkin – CX3CR1 szignalizáció szerepének feltárása az elhízás során történő monociták és makrofágok különböző szövetekbe történő vándorlásában, és aktivációjában
- az elhízással járó, fraktalkin – CX3CR1 függő lokális barna zsírszöveti gyulladás hatásának vizsgálata a szövet triglicerid- és termometabolizmusára.

Módszerek

A kísérleteimet hím heterozigóta CX3CR1 +/gfp (kontroll), és homozigóta CX3CR1 gfp/gfp (fraktalkin receptor deficiens) egereken végeztem. A C57Bl/6J háttérzsról kimutatták, hogy genetikailag érzékeny az étrend indukálta elhízásra [23]. Ezekben az egerekben a *Cx3cr1* gén egy részét *Gfp* riportergénre cserélték, így a heterozigóta állatokban a fraktalkin receptort expresszáló sejtekben működőképes receptor, és GFP-vel jelölt is termelődik, míg a homozigóták GFP-vel jelöltek, de nincs működőképes fraktalkin receptoruk.

Az egerek 10 héten keresztül normál (ND) vagy zsírdús (FatED) tápot kaptak, a tápfogyasztásukat, testsúlyukat hetente mértem. A kísérleti állatok egyik részén a tizedik hét végén glükóz tolerancia tesztet végeztem, egy másik részén hidegtűrés tesztet, a harmadik részén pedig testtömeg összetételt mértem. Feldolgozás után a vérplazmát, és a különböző szöveteket a további felhasználásig mélyhűtőben, vagy fixálóban tároltam.

A glükóz tolerancia tesztet éjszakai éheztes után végeztem. Az alap vércukorszint megállapítását követően az egerek 2 mg/ testsúly g D-glükózt kaptak intraperitoneálisan, és a vércukukat 15-, 30-, 60-, 90- és 120 perc elteltével mértem. A testösszetétel meghatározás EchoMRI™ Body Composition Analyzer (EchoMRI, Houston, TX, USA) segítségével történt. A hidegtűrés tesztben az egerek rektális hőmérsékletét mértem a 4°C-os expozíció előtt, majd 60, 120, 180 és 240 perc elteltével.

A plazma ACTH és kortikoszteron mérés RIA módszerrel történt. A plazma citokineket ELISA-val határoztam meg. A szövettani analízist paraffinba ágyazott epididimális-, szubkután fehér zsírszövet és az interszkapuláris barna zsírszövet metszetein végeztem hematoxilin-eozin festést követően. A makrofágokat DAB-nikkeles, és fluoreszcens immunhisztokémiával jelenítettem meg. A génexpresszió analízist valós idejű PCR-rel, míg az UCP1 fehérje kimutatását western blottal végeztem. A fehér zsírszöveti makrofágokat FACS áramlási citometriával detektáltam. A statisztikai elemzés (kétutas ANOVA, Newman–Keuls post hoc tesztel) a Statistical11 (StatSoft Inc.) szoftver segítségével történt.

Új tudományos eredmények

I. Tézis

Kísérletileg igazoltam, hogy a zsírdús táp indukálta elhízás és metabolikus gyulladás fehér és a barna zsírszöveti fraktalkin expresszió emelkedéssel jár.

Kapcsolódó publikációk: [J1], [J2], [C1], [C2], [C3], [C4].

Kimutattam, hogy

- 10 hét zsírdús diéta testsúlynövekedéshez vezet egerekben
- a testsúlynövekedés / elhízás a megemelkedett zsírlerakódás eredménye
- az elhízott egerek glükóz-, és hideg intoleránsak lesznek
- a zsírdús diéta következményeként morfológiai átalakulás és makrofág beáramlás figyelhető meg a fehér és a barna zsírszövetben
- az elhízott egerekben metabolikus gyulladás alakult ki:
 - megemelkedett a proinflammatorikus IL1b citokin plazmaszintje;
 - a fehér és barna zsírszövet emelkedett kemokin expressziót, és
 - emelkedett proinflammatorikus citokin expressziót mutatott.
- elsőként igazoltam, hogy a zsírdús diéta fraktalkin expressziót indukál a barna zsírszövetben.
- a 10 hetes zsírdús diéta következményeként kialakuló gyulladás a zsírszöveteket érinti, a máj és a hipotalamusz gyulladása nem megfigyelhető.

II. Tézis

Kísérletileg igazoltam, hogy a fraktalkin – CX3CR1 jelátvitel hozzájárul az elhízás kialakulásához

Kapcsolódó publikációk: [J1], [J2], [C1], [C2], [C3].

Mivel a fraktalkin – fraktalkin receptor rendszer részt vesz különböző fehérvérsejtek szignalizációjában, a gyulladással történő vándorlásában és aktivációjában, megvizsgáltam a metabolikus gyulladásban betöltött szerepét.

Kimutattam, hogy a fraktalkin – fraktalkin receptor szignalizáció hiányában a zsíros tápon tartott CX3CR1 gfp/gfp egerek

- kevésbé érzékenyek a zsírdús diéta elhízást elősegítő „obezogén” hatására;
- tömegnövekedésük kisebb, és nem alakul ki náluk glükóz intolerancia;
- kisebbek a zsírsejtjeik és kevesebb „koronaszerű” struktúra található a fehér és a barna zsírszövetükben;
- fraktalkin expressziójuk megegyező, viszont a Ccl2 expressziójuk alacsonyabb;
- kevesebb GFP+ és F4/80+ makrofág gyűlik a fehér és barna zsírszövetbe a zsírdús diéta hatására;
- alacsonyabb proinflammatorikus citokin expresszió figyelhető meg a fehér és barna zsírszövetben;
- nem alakul ki metabolikus gyulladás –
- a normál fraktalkin szignalizációjú CX3CR1 heterozigótákhoz hasonlítva.

III. Tézis

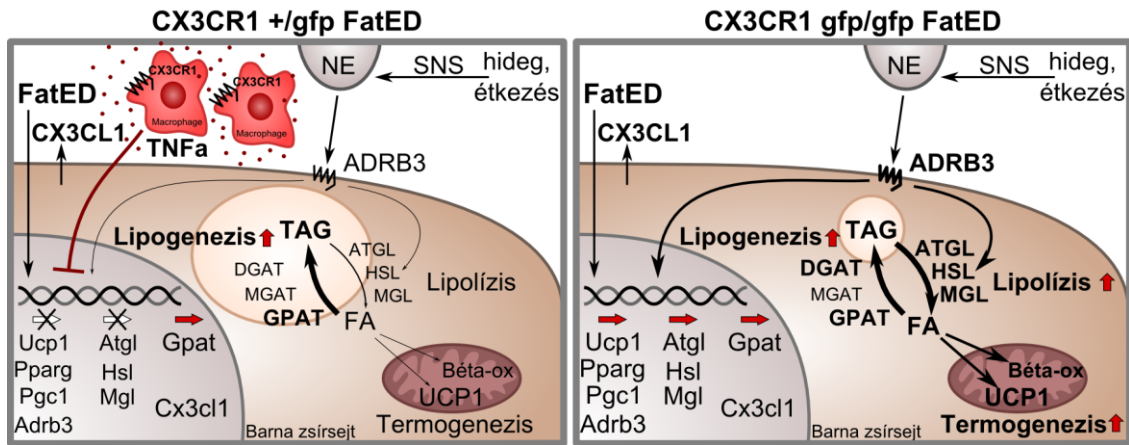
Kísérletileg igazoltam, hogy az elhízással járó, fraktalkin – CX3CR1 jelátvitel függő barna zsírszöveti makrofág akkumuláció és gyulladás befolyásolja a hőtermelést.

Kapcsolódó publikáció: [J1].

Kimutattam, hogy a fraktalkin receptor deficiens egerek elhízás rezisztens fenotípusára jellemző

- a megnövekedett lipolízis, ami a zsírdús diéta indukálta emelkedett lipolitikus és változatlan lipogénikus enzimek expressziójának eredménye;
- és a hőtermelésért felelős szétkapcsoló fehérje (UCP1) megemelkedett expressziója a barna zsírszövetben –
- ami nem megfigyelhető a normál fraktalkin receptor szignalizációval rendelkező elhízott egereken.

A normál, és fraktalkin szignalizációval nem rendelkező egerek barna zsírsejtjeiben zsírdús diéta hatására végbemenő változások a 3. ábrán láthatók.



3. ábra: A fraktalkin – CX3CR1 szignalizáció szerepet játszik a makrofágok barna zsírszövetbe történő vándorlásában az elhízás kialakulása során. A makrofágok jelenléte emelkedett proinflammatorikus citokintermeléshez vezet, ami károsítja a barna zsírszövet hőtermelő kapacitását.

Az eredmények hasznosítási lehetőségei

Az új tudományos eredményeim hozzájárulnak az elhízás, a metabolikus gyulladás, és a hőtermelés folyamatának pontosabb megértéséhez. Ezt a tudást felhasználva új potenciális terápiás célpontok határozhatók meg. Egyrészt a fraktalkin receptor farmakológiai gátlása CX3CR1 antagonistával csökkentheti a makrofágok akkumulációját a zsírszövetekbe, így csökkentve a zsírszöveti gyulladást és az elhízás kialakulását. Egy kutatásban egy CX3CR1 antagonist (F1) kezelés hatékonyan csökkentette a makrofágok akkumulációját érelmeszesedés egérmódelben [24], így a szer használata elhízásban is ígéretes lehet. Kutatásom alapján, noha a kezdetektől adagolva a CX3CR1 antagonist lassíthatja az elhízás kialakulását, a már elhízottakon alkalmazott kezelés hatékonysága, az elhízás mértékének esetleges csökkenése további vizsgálatokra szorul.

Másrészt a hőtermelésért felelős barna zsírszövet, mint az energialeadás fontos színhelye, szintén potenciális terápiás célpont lehet. A barna zsírszövetbe történő makrofág akkumulációt, így a gyulladás kialakulását megakadályozva, vagy gyulladás gátlásával a hőtermelő kapacitás emelhető, így az emelkedett hőtermeléssel a fölösleges zsírsavak elégethetők. Egy egereken végzett kísérletben kimutatták, hogy hideg hatására a zsírszöveti makrofágok alternatív aktiváción esnek át, ami katekolaminok szekréciójához vezet. A katekolaminok pedig a barna zsírszövetben a hőtermeléshez szükséges fehérjék expresszióját indukálják, a fehér zsírszövetben pedig a lipolízist serkentik [25]. Az eredményeim szerint a

proinflammatorikus környezet felelős a nem megfelelő hőtermelésért az elhízott egerekben. Ezek alapján beállítható lehet egy humán hidegterápiás kezelési protokoll, ami serkentené a proinflammatorikus szöveti makrofágok alternatíván aktivált formává történő alakulását, és a katekolamin termelést, ami a barna zsírszövet aktivációjához, a felesleges zsírsavak elégetéséhez, végső soron testsúlyvesztéshez vezethet.

Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőm, Kovács Krisztina támogatását, segítségét, hasznos tanácsait.

Köszönöm munkatársaim, Benkő Julianna, Dénes Ádám, Ferenczi Szilamér, Kriszt Rókus, Kővári Dóra, Kuti Dániel, Küblerné Pintér Bernadett, Winkler Zsuzsanna segítségét.

Köszönöm a Doktori Iskolának, különösképpen Dr. Szolgay Péternek, hogy részt vehettem a doktori programban, és Vida Tivadarnének a sok segítséget.

Köszönöm a szüleim, és barátaim támogatását.

A kutatásokat az OTKA finanszírozta (109622, Kovács Krisztina; 109744, Ferenczi Szilamér; 109743, Dénes Ádám)

Publikációs lista

Tudományos folyóiratokban megjelent publikációk

[J1] Polyák Á, Winkler Z, Kuti D, Ferenczi S, Kovács KJ.

Brown adipose tissue in obesity: Fraktalkine-receptor dependent immune cell recruitment affects metabolic-related gene expression.

Biochim Biophys Acta. 2016 Jul 12;1861(11):1614-1622. doi: 10.1016/j.bbalip.2016.07.002.

[J2] Polyák A, Ferenczi S, Dénes A, Winkler Z, Kriszt R, Pintér-Kübler B, Kovács KJ.

The fraktalkine/Cx3CR1 system is implicated in the development of metabolic visceral adipose tissue inflammation in obesity.

Brain Behav Immun. 2014 Jan 21. pii: S0889-1591(14)00011-7. doi: 10.1016/j.bbi.2014.01.010

Konferencia publikációk

[C1] Ágnes Polyák, Zsuzsanna Winkler, Szilamér Ferenczi, Dóra Kővári, Dániel Kuti, Krisztina J. Kovács

Role of fraktalkine/Cx3CR1 signaling in macrophage trafficking into adipose tissues and in the development of obesity

Central European Congress on Obesity, 1-3 October 2015, Budapest, Hungary

[C2] Ágnes Polyák, Zsuzsanna Winkler, Szilamér Ferenczi, Dóra Kővári, Dániel Kuti, Krisztina Kovács

Regulation of energy homeostasis in high fat diet fed Cx3CR1 deficient and control mice

MITT, Budapest, Hungary, January 22-23, 2015

[C3] Ágnes Polyák, Zsuzsanna Winkler, Szilamér Ferenczi, Krisztina J. Kovács

Fraktalkine/Cx3CR1 signaling in brown adipose tissue and diet induced obesity
From Medicine to Bionics 2014, 2nd European Ph.D. Conference, Budapest, May 9-10, 2014

[C4] Ágnes Polyák, Szilamér Ferenczi, Zsuzsanna Winkler, Ádám Dénes, Rókus Kriszt, Bernadett Pintér-Kübler and Krisztina J. Kovács

The Fraktalkine/Cx3CR1 System is Implicated in the Development of Metabolic Visceral Adipose Tissue Inflammation in Obesity
IBRO, january 16-17. Debrecen, Hungary, 2014

Ágnes Polyák

Role of macrophages in energy homeostasis
in PhD Proceedings Annual Issues of the Doctoral School, Faculty of Information Technology and Bionics, Pázmány Péter Catholic University – 2015. G. Prószéky, P. Szolgay Eds. Budapest: Pázmány University ePress, 2015, pp 89– 92.

Ágnes Polyák

Fraktalkine/Cx3CR1 signaling in brown adipose tissue and diet induced obesity
in PhD Proceedings Annual Issues of the Doctoral School - 2014, T. Roska, G. Prószéky, P. Szolgay, Eds. Faculty of Information Technology and Bionics, Pázmány Péter Catholic University. Budapest, Hungary: Pázmány University ePress, 2014, pp. 55-58.

Ágnes Polyák

Effects of Fraktalkine/CX3CR1 system on the development of obesity
in Proceedings of the Interdisciplinary Doctoral School in the 2012-2013 Academic Year, T. Roska, G. Prószéky, P. Szolgay, Eds. Faculty of Information Technology, Pázmány Péter Catholic University. Budapest, Hungary: Pázmány University ePress, 2013, vol. 8, pp. 59-62.

Egyéb, a disszertációhoz nem kapcsolódó publikációk

Rókus Kriszt , Zsuzsanna Winkler, Ágnes Polyák, Csilla Molnár, Erik Hrabovszky, Imre Kalló, Zsuzsanna Szőke, Szilamér Ferenczi and Krisztina J. Kovács

Xenoestrogens Ethinyl Estradiol and Zearalenone Advance Puberty in Female Rats via Central Kisspeptin Signaling

Endocrinology. 2015 Nov;156(11):3996-4007. doi: 10.1210/en.2015-1330.

Nagy Tamás, Kovács J. Krisztina, Polyák Ágnes, Harmat László, Bárdos György, Fülöp Márta

A versengés jutalmazásának hatása a nyáltesztoszteron-szintre és a teljesítményre fiatal felnőtt férfiakban: a hiperversengés szerepe

MAGYAR PSZICHOLÓGIAI SZEMLE 70:(1) pp. 121-141. (2015)

Bernadett Pintér-Kübler, Szilamér Ferenczi, Cristina Núñez, Edina Zelei, Ágnes Polyák, M. Victoria Milanés, and Krisztina J. Kovács

Differential Changes in Expression of Stress- and Metabolic-related Neuropeptides in th Rat Brain during Morphine Withdrawal-induced Anorexia

PLoS One. 2013 Jun 21;8(6):e67027. doi: 10.1371/journal.pone.0067027.

Referenciák

- 1 O'Neill, S., and O'Driscoll, L.: 'Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies', *Obes Rev*, 2015, 16, (1), pp. 1-12
- 2 Monteiro, R., and Azevedo, I.: 'Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome', *Mediators Inflamm*, 2010, 2010
- 3 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
- 4 Saely, C.H., Geiger, K., and Drexel, H.: 'Brown versus White Adipose Tissue: A Mini-Review', *Gerontology*, 2012, 58, (1), pp. 15-23
- 5 Pfeifer, A., and Hoffmann, L.S.: 'Brown, Beige, and White: The New Color Code of Fat and Its Pharmacological Implications', *Annu Rev Pharmacol*, 2015, 55, pp. 207-227
- 6 Henry, S.L., Bensley, J.G., Wood-Bradley, R.J., Cullen-McEwen, L.A., Bertram, J.F., and Armitage, J.A.: 'White adipocytes: More than just fat depots', *Int J Biochem Cell B*, 2012, 44, (3), pp. 435-440
- 7 Cannon, B., and Nedergaard, J.: 'Brown adipose tissue: function and physiological significance', *Physiol Rev*, 2004, 84, (1), pp. 277-359
- 8 Bartelt, A., Bruns, O.T., Reimer, R., Hohenberg, H., Ittrich, H., Peldschus, K., Kaul, M.G., Tromsdorf, U.I., Weller, H., Waurisch, C., Eychmuller, A., Gordts, P.L., Rinninger, F., Bruegelmann, K., Freund, B., Nielsen, P., Merkel, M., and Heeren, J.: 'Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance', *Nat Med*, 2011, 17, (2), pp. 200-205
- 9 Peirce, V., and Vidal-Puig, A.: 'Regulation of glucose homeostasis by brown adipose tissue', *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2013, 1, (4), pp. 353-360
- 10 Chawla, A., Nguyen, K.D., and Goh, Y.P.: 'Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease', *Nat Rev Immunol*, 2011, 11, (11), pp. 738-749
- 11 Wu, D., Molofsky, A.B., Liang, H.E., Ricardo-Gonzalez, R.R., Jouihan, H.A., Bando, J.K., Chawla, A., and Locksley, R.M.: 'Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis', *Science*, 2011, 332, (6026), pp. 243-247
- 12 Qiu, Y., Nguyen, K.D., Odegaard, J.I., Cui, X., Tian, X., Locksley, R.M., Palmiter, R.D., and Chawla, A.: 'Eosinophils and type 2 cytokine signaling in macrophages orchestrate development of functional beige fat', *Cell*, 2014, 157, (6), pp. 1292-1308
- 13 Medrikova, D., Sijmonsma, T.P., Sowodniok, K., Richards, D.M., Delacher, M., Sticht, C., Gretz, N., Schafmeier, T., Feuerer, M., and Herzig, S.: 'Brown adipose tissue harbors a distinct sub-population of regulatory T cells', *PLoS One*, 2015, 10, (2), pp. e0118534
- 14 Tilg, H., and Moschen, A.R.: 'Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity', *Nat Rev Immunol*, 2006, 6, (10), pp. 772-783

- 15 Thaler, J.P., Yi, C.X., Schur, E.A., Guyenet, S.J., Hwang, B.H., Dietrich, M.O., Zhao, X., Sarruf, D.A., Izgur, V., Maravilla, K.R., Nguyen, H.T., Fischer, J.D., Matsen, M.E., Wisse, B.E., Morton, G.J., Horvath, T.L., Baskin, D.G., Tschop, M.H., and Schwartz, M.W.: 'Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans', *The Journal of clinical investigation*, 2012, 122, (1), pp. 153-162
- 16 Shi, C., and Pamer, E.G.: 'Monocyte recruitment during infection and inflammation', *Nature reviews. Immunology*, 2011, 11, (11), pp. 762-774
- 17 Umehara, H., Bloom, E.T., Okazaki, T., Nagano, Y., Yoshie, O., and Imai, T.: 'Fraktalkine in vascular biology: from basic research to clinical disease', *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2004, 24, (1), pp. 34-40
- 18 Jung, S., Aliberti, J., Graemmel, P., Sunshine, M.J., Kreutzberg, G.W., Sher, A., and Littman, D.R.: 'Analysis of fraktalkine receptor CX(3)CR1 function by targeted deletion and green fluorescent protein reporter gene insertion', *Mol Cell Biol*, 2000, 20, (11), pp. 4106-4114
- 19 D'Haese, J.G., Friess, H., and Ceyhan, G.O.: 'Therapeutic potential of the chemokine-receptor duo fraktalkine/CX3CR1: an update', *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16, (6), pp. 613-618
- 20 Jones, B.A., Beamer, M., and Ahmed, S.: 'Fraktalkine/CX3CL1: A Potential New Target for Inflammatory Diseases', *Mol Interv*, 2010, 10, (5), pp. 263-270
- 21 White, G.E., and Greaves, D.R.: 'Fraktalkine: a survivor's guide: chemokines as antiapoptotic mediators', *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 2012, 32, (3), pp. 589-594
- 22 Shah, R., Hinkle, C.C., Ferguson, J.F., Mehta, N.N., Li, M., Qu, L., Lu, Y., Putt, M.E., Ahima, R.S., and Reilly, M.P.: 'Fraktalkine is a novel human adipochemokine associated with type 2 diabetes', *Diabetes*, 2011, 60, (5), pp. 1512-1518
- 23 Collins, S., Martin, T.L., Surwit, R.S., and Robidoux, J.: 'Genetic vulnerability to diet-induced obesity in the C57BL/6J mouse: physiological and molecular characteristics', *Physiology & behavior*, 2004, 81, (2), pp. 243-248
- 24 Poupel, L., Boissonnas, A., Hermand, P., Dorgham, K., Guyon, E., Auvynet, C., Saint Charles, F., Lesnik, P., Deterre, P., and Combadiere, C.: 'Pharmacological Inhibition of the Chemokine Receptor, CX3CR1, Reduces Atherosclerosis in Mice', *Arterioscl Throm Vas*, 2013, 33, (10), pp. 2297-2305
- 25 Nguyen, K.D., Qiu, Y., Cui, X., Goh, Y.P., Mwangi, J., David, T., Mukundan, L., Brombacher, F., Locksley, R.M., and Chawla, A.: 'Alternatively activated macrophages produce catecholamines to sustain adaptive thermogenesis', *Nature*, 2011, 480, (7375), pp. 104-108