

Aus dem Institut für Endokrinologie und Diabetes  
der Universität zu Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Jens Mittag

---

# **Der Einfluss von aktiviertem braunen Fettgewebe auf den Glukose – und Lipidstoffwechsel bei Menschen mit Adipositas Grad I**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
**- Aus der Sektion Medizin -**

Vorgelegt von  
**Leonie Evans**  
**geb. Rademacher**  
aus Arnsberg

Lübeck 2025

1. Berichterstatter\*in: Prof. Dr. med. Sebastian M. Meyhöfer  
Ko-Betreuer\*in: Prof. Dr. med. Karl-Friedrich Klotz  
2. Berichterstatter\*in: Prof. Dr. med. Martha Kirstein

Tag der mündlichen Prüfung: 13.01.2025

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 17.01.2025

- Promotionskommission der Sektion Medizin -

## Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>II</b>
<b>SONDERZEICHEN.....</b>	<b>4</b>
<b>1. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Die verschiedenen Arten von Fettgewebe.....</b>	<b>2</b>
1.1.1. Weißes Fettgewebe.....	2
1.1.2. Braunes Fettgewebe.....	3
1.1.3. Beiges Fettgewebe.....	4
<b>1.2. Humanes braunes Fettgewebe.....</b>	<b>5</b>
1.2.1. Die (Wieder-) Entdeckung des humanen braunen Fettgewebes.....	5
1.2.2. Typische Lokalisationen und Nachweismethoden von aktivem braunen Fettgewebe im Menschen .....	6
1.2.3. Mechanismen der Aktivierung des braunen Fettgewebes .....	7
<b>1.3. Metabolische Relevanz des aktiven braunen Fettgewebes für den Menschen... 9</b>	<b>9</b>
1.3.1. Grundlagen der Insulin-, Glukose- und Lipidregulation .....	9
1.3.2. Positive metabolische Effekte durch aktiviertes braunes Fettgewebe.....	10
1.3.3. Das Potenzial braunen Fettgewebes im Kampf gegen Adipositas und Folgeerkrankungen .....	11
<b>1.4. Ziele und Fragestellung.....</b>	<b>13</b>
<b>2. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1. Probanden .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2. Studiendesign und Versuchsaufbau.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3. Darstellung der Einzeluntersuchungen .....</b>	<b>20</b>
2.3.1. Temperaturregistrierung durch iButtons® .....	20
2.3.2. Bioelektrische Impedanzanalyse .....	21
<b>2.4. Berechnung der Indizes.....</b>	<b>22</b>
<b>2.5. Blutzucker- und Hormonbestimmungen.....</b>	<b>23</b>
<b>2.6. Statistische Auswertung.....</b>	<b>23</b>

---

<b>3. ERGEBNISSE .....</b>	<b>25</b>
<b>3.1. Anthropometrische Daten, Blutwerte und Daten der Körperzusammensetzung</b>	<b>25</b>
<b>3.2. Temperaturanalysen .....</b>	<b>26</b>
3.2.1. Körperkerntemperatur .....	26
3.2.2. Oberflächentemperatur der Haut .....	26
<b>3.3. Botnia Clamp .....</b>	<b>29</b>
3.3.1. Blutglukose .....	29
3.3.2. Insulin .....	31
3.3.3. Glukoseverbrauch während des Steady State ( $t_{150-210}$ ) .....	33
3.3.4. M-Value, $S_I$ -Index und Dispositionsindex .....	33
3.3.5. HOMA-IR und HOMA- $\beta$ .....	34
<b>3.4. Katecholamine .....</b>	<b>35</b>
3.4.1. Noradrenalin .....	35
3.4.2. Dopamin .....	36
3.4.3. Adrenalin .....	37
<b>3.5. Parameter des Lipidstoffwechsels .....</b>	<b>37</b>
3.5.1. Triglyzeride .....	37
3.5.2. Cholesterin <sub>gesamt</sub> , HDL und LDL .....	38
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>39</b>
<b>4.1. Aktivierung von BAT durch das sympathische Nervensystem und Nachweis der Aktivierung durch zitterfreie Thermogenese.....</b>	<b>40</b>
<b>4.2. Auswirkung der BAT Aktivierung auf die sekretorische <math>\beta</math>-Zellkapazität sowie die periphere Insulinsensitivität .....</b>	<b>42</b>
<b>4.3. Auswirkung der BAT Aktivierung auf den Lipidstoffwechsel.....</b>	<b>46</b>
<b>4.4. Methodische Einschränkungen .....</b>	<b>47</b>
<b>4.5. Ausblick .....</b>	<b>48</b>
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>50</b>

<b>6. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>51</b>
<b>7. VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN UND TABELLEN .....</b>	<b>63</b>
7.1. <b>Abbildungen .....</b>	<b>63</b>
7.2. <b>Tabellen .....</b>	<b>63</b>
<b>8. ANHÄNGE .....</b>	<b>64</b>
8.1. <b>Probandeninformation und Einverständniserklärung .....</b>	<b>64</b>
8.2. <b>Eigenständigkeitserklärung.....</b>	<b>69</b>
8.3. <b>Erklärung zum Ethikvotum .....</b>	<b>69</b>
<b>9. DANKSAGUNGEN .....</b>	<b>70</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
ANOVA	Varianzanalyse ( <i>Analysis of Variance</i> )
AUC	Fläche unter der Kurve ( <i>Area Under The Curve</i> )
ATGL	Triacylglycerin Lipase
ATP	Adenosintriphosphat
BAT	Braunes Fettgewebe ( <i>brown adipose tissue</i> )
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMI	Körpermasseindex ( <i>Body Mass Index</i> )
CT	Computertomographie
DI	Dispositionsindex
DMT2	Diabetes mellitus Typ 2
e.g.	zum Beispiel ( <i>exempli gratia</i> )
EMG	Elektromyogramm
FADH <sub>2</sub>	Flavin-Adenin-Dinukleotid
<sup>18</sup> F-FDG-PET	<sup>18</sup> F-Fluorodeoxyglucose Positronen-Emissions-Tomographie
FFA	freie Fettsäuren ( <i>free fatty acids</i> )
FPIR	<i>first phase insulin response</i>
<sup>18</sup> FTHA	<sup>18</sup> F-Fluoro-6-Thiaheptadecanoic Acid
GLUT	Glukosetransporter
HEC	Hyperinsulinämie-euglykämie Clamp
HSL	Hormon-sensitive Lipase
ivGTT	Intravenöser Glukosetoleranztest
kg	Kilogramm
MRT	Magnetresonanztomographie
min	Minuten
LPL	Lipoproteinlipase
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NEFA	nicht-veresterte Fettsäuren ( <i>non-esterified fatty acids</i> )
NST	zitterfreie Thermogenese ( <i>non-shivering thermogenesis</i> )
o.g.	oben genannt
PCR	Polymerasekettenreaktion ( <i>polymerase chain reaction</i> )
PRDM-16	PR domain containing 16 (Transkriptionsfaktor für BAT)

REE	Ruheenergieverbrauch ( <i>resting energy expenditure</i> )
SNS	Sympathisches Nervensystem
SPECT	Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie
SPIR	<i>Second Phase Insulin Response</i>
s.u.	siehe unten
TG	Triglyzeride
u.a.	unter anderem
UCP-1	Thermogenin ( <i>uncoupling protein one</i> )
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
VLDL	<i>Very Low-Density Lipoproteine</i>
WAT	weißes Fettgewebe ( <i>white adipose tissue</i> )
WHO	Weltgesundheitsorganisation ( <i>World Health Organization</i> )
z.B.	zum Beispiel

## Sonderzeichen

$\leq$	kleiner, gleich
$<$	kleiner als
$\geq$	größer, gleich
$>$	größer als
$\pm$	plus/minus
x	mal
$\alpha$	alpha
$\beta$	beta
$\delta$	delta
$\mu$	mikro
$^\circ$	Grad
%	Prozent

## 1. Einleitung und Fragestellung

Adipositas ist eine Volkskrankheit deren Prävalenz in den letzten vier Jahrzehnten weltweit stark zugenommen hat (Ng et al., 2014; GBD 2015 Obesity Collaborators, 2017). Laut der Weltgesundheitsorganisation (World Health Organization, WHO) hat sich die Anzahl der Menschen die unter Adipositas leiden seit 1975 verdreifacht (WHO, 2021). Auch in Deutschland nimmt die Prävalenz der Adipositas sowohl unter Männern als auch unter Frauen stetig zu und betrifft in besonderem Maße junge Erwachsene. Die Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland aus dem Jahr 2013 zeigen, dass die Prävalenz der Adipositas für Männer insgesamt bei 23,3% und für Frauen insgesamt bei 23,9% liegt (Mensink et al., 2013) - knapp einem Viertel der Bevölkerung.

Adipositas, umgangssprachlich Fettleibigkeit, ist eine chronische Erkrankung multifaktorieller Genese mit erhöhtem Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko. Sie wird sowohl durch unsere genetische Disposition als auch durch unsere Umwelt und unseren Lebensstil beeinflusst (Bray et al., 2017). Beschrieben als eine „über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts“ durch die Deutsche Adipositas Gesellschaft, wird Adipositas vor allem durch den Körpermasseindex, den Body Mass Index (Quotient aus Körpergewicht und Körpergröße zum Quadrat ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )),  $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ , definiert (DAG e.V., 2022). Initial bekannt als Quetelet's index im 19. Jahrhundert, gilt der BMI als einfaches Maß zur einheitlichen Beurteilung der internationalen Entwicklung von Adipositas (Garrow und Webster, 1985).

Komplexe Erkrankungen wie beispielsweise Diabetes mellitus Typ 2 (DMT2) oder das metabolische Syndrom, bestehend aus stammbetonter Adipositas, Dyslipoproteinämie, arterieller Hypertonie und einer Glukosetoleranzstörung, das „tödliche Quartett“, stellen eine enorme Herausforderung an die heutige Medizin dar und fordern langjährige, multimodale Therapiekonzepte, welche das Gesundheitssystem personell, konstitutionell und finanziell belasten (Hanefeld und Leonhardt, 1981; Kaplan, 1989; WHO, 2000). Aufgrund dessen ist die wissenschaftliche Forschung zum Verständnis der grundlegenden pathophysiologischen Mechanismen zur Entstehung der Adipositas, Behandlung und Prävention ihrer Begleit- und Folgeerkrankungen wesentlich im globalen Kampf gegen die wachsende Ausbreitung von Adipositas in vielen Ländern der Erde.

Das Fettgewebe als Organ, mit seinen verschiedenen Lokalisationen sowie seinen metabolischen und hormonellen Eigenschaften, spielt eine zentrale Rolle in der heutigen Adipositas Wissenschaft. Besonders das braune Fettgewebe, kurz BAT für *brown adipose*

*tissue*, ist durch seine positiven energetischen Eigenschaften *in vitro* als auch *in vivo* in den Fokus der Forschung gerückt. Mehrere Studien konnten nachweisen, dass sich vorhandenes BAT durch Kälte aktivieren lässt und mittels zitterfreier Thermogenese relevante Mengen an Energieträgern, wie Glukose und freie Fettsäuren (*free fatty acids* (FFA)), aus dem Blut verstoffwechselt. Dadurch lässt sich beispielsweise der Ruheenergieverbrauch (*resting energy expenditure* (REE)) eines Menschen steigern (van Marken Lichtenbelt et al., 2009).

In der vorliegenden Arbeit sollen die metabolischen Eigenschaften einer Kälte-induzierten Aktivierung von vorhandenem BAT in jungen Männern mit Adipositas Grad I untersucht werden, denn die individuelle BAT Aktivität korreliert negativ mit dem BMI und der prozentualen Körperfettmasse (Ouellet et al., 2011). Insbesondere favorisierte metabolische Effekte die in schlanken Menschen bereits nachgewiesen worden sind (Chondronikola et al., 2014; Iwen et al., 2017), sollen in diesem Studienkollektiv weiter charakterisiert werden mit einem Schwerpunkt auf Parametern des Glukose- und Lipidstoffwechsels. Zunächst wird einleitend ein Überblick über die Arten und unterschiedlichen Eigenschaften von Fettgeweben gegeben, mit besonderem Augenmerk auf BAT. Anschließend wird die Entdeckung sowie Regulation von BAT näher erläutert und seine metabolische Relevanz für den menschlichen Organismus beschrieben.

## **1.1. Die verschiedenen Arten von Fettgewebe**

Das Fettgewebe macht bei normalgewichtigen Männern durchschnittlich etwa 18-19% des Körpergewichts aus, bei Frauen sind es etwa 29%. Bei Menschen mit Adipositas kann der Anteil je nach Geschlecht und Grad der Adipositas auch bis zu 50% betragen (Data Input GmbH, 2005). Es gibt zwei Arten von Fettgewebe, die für den menschlichen Körper besonders relevant sind und aufgrund ihres makroskopischen Aussehens in weißes Fettgewebe, WAT für *white adipose tissue*, und BAT unterschieden werden. Zugleich wurde erst vor ca. 10 Jahren eine neue Art des Fettgewebes entdeckt, die als beiges oder auch „brite“, für *brown in white*, Fettgewebe bezeichnet wird (Wu et al., 2012).

### **1.1.1. Weißes Fettgewebe**

WAT ist vornehmlich der Energiespeicher des Menschen. Ebenso ist es für die thermische Isolation und als mechanisches „Füllgewebe“ wichtig. Darüber hinaus ist das WAT ein großes endokrines Organ, welches eine Schlüsselfunktion zwischen Gehirn und Metabolismus einnimmt. Es kann die Energiehomöostase durch seine flexible Anpassung

an Energiebedarf und aktuelles Nahrungsangebot modulieren. Verschiedene Entitäten, wie subkutanes oder viszerales Fettgewebe, kommen auch aufgrund ihrer Lokalisation unterschiedlichen Funktionen nach. Die Zunahme des metabolisch sehr aktiven viszeralen Fettgewebes ist besonders mit Erkrankungen wie DMT2 oder dem metabolischen Syndrom assoziiert (Merkel et al., 2019).

Kernmerkmale von WAT sind große, unilokuläre Fettzellen, welche reich an Lipiden sind und nur wenige Mitochondrien beinhalten. Hier werden vor allem Triacylglycerine, kurz Triglyceride (TG), gespeichert - sie machen etwa 95% der Zellmasse aus. WAT ist neben der Leber und der Skelettmuskulatur der Ort der Lipogenese, sowie der Lipolyse. Die Schlüsselenzyme dieser Stoffwechselprozesse werden durch Katecholamine oder Hormone wie Insulin und Glukagon optimal justiert. WAT produziert und sezerniert zudem selbst Adipokine, wie beispielsweise Leptin, Adiponectin oder Interleukin-6, die den menschlichen Metabolismus als Bestandteil multipler Rückkopplungsmechanismen regulieren (Löffler, 2007; Rosenwald und Wolfrum, 2014).

#### 1.1.2. Braunes Fettgewebe

BAT, heutzutage als das „gesunde Fettgewebe“ betitelt, ist ein „Verbrennungsmotor“ für Energiesubstrate wie Glukose und FFAs. Es trägt positiv zur Energiebilanz des Menschen bei. Bekannt als essentielles Organ für Neugeborene und Winterschläfer, wandelt BAT chemische Energie in thermische um und trägt somit zur Aufrechterhaltung der Körperkerntemperatur mittels zitterfreier Thermogenese (*non-shivering thermogenesis* (NST)) bei (Cannon und Nedergaard, 2004).

BAT zeichnet sich durch kleine, multilokuläre Fettzellen mit reichlich Mitochondrien aus. Es ist stark vaskularisiert und dicht durch sympathische Nervenfasern innerviert (Zingaretti et al., 2009). Innerhalb der Mitochondrien liegt die Atmungskette. Diese ist in allen Zellen des Körpers für den Prozess der Zellatmung verantwortlich. Für die Zellatmung werden Sauerstoff ( $O_2$ ) und die Nebenprodukte des Citratzyklus, Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) und Flavin-Adenin-Dinukleotid ( $FADH_2$ ), benötigt. Das Endprodukt der Atmungskette ist Adenosintriphosphat (ATP). Es wird im finalen Schritt durch die so genannte ATP-Synthase mit Hilfe eines über die Mitochondrienmembran aufgebauten Protonengradienten erzeugt und ist als wichtigster Energielieferant universell für sämtliche Stoffwechselreaktionen eines Organismus unverzichtbar (Löffler, 2007).

Braune Fettgewebszellen sind einzigartig, denn sie können diesen Prozess, der auch als oxidative Phosphorylierung bezeichnet wird, verändern. Über eine gesteigerte

Transkription des UCP-1 (*uncoupling protein one*) Gens wird die Expression des Transmembranproteins UCP-1, auch Thermogenin genannt, erhöht. Thermogenin fungiert als Entkopplungskanal der oxidativen Phosphorylierung. Dieser nutzt den aufgebauten Protonengradienten der Atmungskette für die Erzeugung von Wärme. Ein Teil der zuvor generierten Energie der Zelle wird somit ohne die Synthese von ATP in Form von Wärme freigesetzt, was man als NST bezeichnet – die Kerneigenschaft von BAT (Klingenberg und Huang, 1999; Nedergaard et al., 2001).

Ferner ist BAT nicht innerhalb weißer Fettdepots ubiquitär im Körper zu finden, sondern an charakteristischen Lokalisationen, wie zum Beispiel (z.B.) bei Erwachsenen oberhalb der Klavikular (Cypess et al., 2009; Enerbäck, 2010). Darüber hinaus ist BAT ein Organ mit einem noch weitestgehend unklaren Sekretionsmuster im Vergleich zum WAT. Neue Studien konnten sogenannte „Batokines“, *brown adipokines*, nachweisen, die sowohl autokrin, parakrin als auch endokrin wirken können und deren Bedeutung für die menschliche Energiehomöostase relativ unerforscht ist (Villarroya et al., 2019).

### 1.1.3. Beiges Fettgewebe

Beiges Fettgewebe wird erst seit 2012 als distinkte Fettgewebsart anerkannt (Wu et al., 2012). Bereits zuvor war beobachtet worden, dass einige weiße Fettzellen nach Kältestimulation braune Eigenschaften, wie eine erhöhte Expression von UCP-1 entwickeln können (Young et al., 1984; Cousin et al., 1992). Durch den Nachweis spezifischer Genexpressionsprofile und eigener beiger Oberflächenproteine spricht man heute von einer dritten Fettgewebsart (Wu et al., 2012). Es wurde festgestellt, dass beige Fettzellen und WAT mit großer Wahrscheinlichkeit gleiche Vorläuferzellen teilen (Ishibashi und Seale, 2010; Petrovic et al., 2010). Dies trifft auf klassisches BAT, welches von Myf-5-muscle-like Progenitorzellen abstammt, nicht zu. Trotz der sehr ähnlichen Morphologie von BAT und beigen Fettgewebszellen, scheinen sowohl die Depots im Körper des Menschen als auch die Ursprünge der Transkription verschieden zu sein (Seale et al., 2008).

Bestandteil aktueller Forschung ist es eine Unterscheidung zwischen BAT und beigen Fettgewebszellen bildmorphologisch und metabolisch zu ermöglichen, sowie Auslöser für ein „bräunen“ von WAT zu identifizieren um die positiven Eigenschaften dessen für die heutige Adipositas Wissenschaft nutzen zu können.

## 1.2. Humanes braunes Fettgewebe

### 1.2.1. Die (Wieder-) Entdeckung des humanen braunen Fettgewebes

BAT wurde erstmals 1551 durch Gesner beschrieben und ist ein Gewebe, welches in fast allen Säugetieren existiert. Vor allem Nagetiere die Winterschlaf halten besitzen reichlich BAT um sich vor Hypothermie zu schützen (Smith und Horwitz, 1969). Im menschlichen Organismus ist BAT vor allem in Neugeborenen ein aktives Organ, welches die Kerntemperatur für lebenswichtige metabolische Prozesse im Körper unabhängig von der Umgebungstemperatur durch NST aufrechterhält. Es macht etwa 5% des neonatalen Körpergewichts aus und sitzt überwiegend in der oberen Körperhälfte, vor allem zwischen den Schulterblättern (Heaton, 1972). NST ist bei Neugeborenen durch das Missverhältnis von Körpermasse zur Körperoberfläche lebensentscheidend. Thermoregulatorische Prozesse wie Muskelzittern, Muskelaktivität, Verdauung oder eine adäquate Aktivierung des Nervensystems zur Veränderung der körpereigenen Durchblutung sind noch nicht ausreichend gereift (Aherne und Hull, 1966; Cannon und Nedergaard, 2004).

Lange wurde angenommen, dass BAT in Erwachsenen keine entscheidende Funktion mehr besitzt und sich mit dem Alter zurückbildet (Lean, 1989). *Huttunen et al.* konnten 1981 erstmals nachweisen, dass BAT in finnischen Holzfällern, die dauerhaft Kälte-exponiert arbeiten, vermehrt vorkommt und aktiv war. Sie entnahmen dafür post-mortem Gewebeproben aus dem Halsbereich und untersuchten diese morphologisch sowie enzymatisch (Huttunen et al., 1981). Darüber hinaus konnte BAT in Patienten mit Phäochromozytom verstärkt nachgewiesen werden. Dies ist ein neuroendokriner Tumor, der überwiegend im Nebennierenmark sitzt und unkontrolliert Katecholamine wie Noradrenalin und Adrenalin freisetzt (Ricquier et al., 1982; Lean et al., 1986). Die entscheidende Untersuchung zur Entdeckung von aktivem braunem Fettgewebe gelang jedoch erst nuklearmedizinisch. Die Einführung der  $^{18}\text{F}$ -Fluorodeoxyglucose Positronen-Emissions-Tomographie ( $^{18}\text{F}$ -FDG-PET) gepaart mit einem Computertomogramm (Computertomographie, CT) zur Detektion von stoffwechselaktiven Metastasen im Rahmen des Tumorstaging, führte wiederholt zur symmetrischen Aufnahme von  $^{18}\text{F}$ -Fluorodeoxyglucose im Fettgewebe der Schulter- und Halsregion bei unterschiedlichen Krebserkrankungen (Hany et al., 2002). Durch gezielte Biopsien konnte schließlich klassisches BAT nachgewiesen werden und eine Verbindung zwischen Kälte, sympathischem Nervensystem und aktivem humanem BAT wurde postuliert (Nedergaard et al., 2007).

### 1.2.2. Typische Lokalisationen und Nachweismethoden von aktivem braunen Fettgewebe im Menschen

Im Jahr 2009 bekam die Forschung zu BAT durch drei Studien, die im *The New England Journal of Medicine* publiziert wurden, einen neuen Aufschwung.

*Cypess et al.* analysierten retrospektiv 3640  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT Bilder nach einheitlich festgelegten Kriterien, die von 2003 bis 2006 aus verschiedenen medizinischen Gründen angefertigt wurden. Sie beschrieben die typischen Lokalisationen von BAT Depots als supra- und infraklavikulär, im oberen Mediastinum, entlang der apikalen Wirbelsäule sowie in Einzelfällen perinephritisch (*Cypess et al.*, 2009). Durch die ermittelten Daten konnte die Forschungsgruppe aus Boston nicht nur die Existenz von BAT in Erwachsenen nachweisen, sondern stieß auch auf erste Hinweise, dass BAT möglicherweise von metabolischer Relevanz für den Menschen sein könnte. Bei den Analysen war auffallend, dass BAT beispielsweise in Frauen häufiger detektiert wurde und bei diesen sowohl eine größere Masse als auch höhere Aktivität als bei Männern aufwies. Zugleich wurde eine geringere Menge an BAT mit zunehmendem Lebensalter festgestellt (*Cypess et al.*, 2009).

In den beiden anderen Studien wurden gesunde, junge Probanden nach einem jeweils einheitlichen Protokoll dem Stimulus Kälte ausgesetzt und nach einer Adaptationszeit einem  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT unterzogen (*van Marken Lichtenbelt et al.*, 2009; *Virtanen et al.*, 2009). *Van Marken Lichtenbelt et al.* konnten BAT so in über 90% der teilnehmenden Probanden nachweisen, sowohl in normalgewichtigen als auch in übergewichtigen Probanden. Es wurde festgestellt, dass die Aktivität von BAT negativ mit dem BMI und der Körperfettmasse korrelierte, nicht jedoch mit dem BAT Volumen. Am stärksten stoffwechselaktiv zeigte sich hier das supra- und infraklavikuläre BAT Depot (*van Marken Lichtenbelt et al.*, 2009). *Virtanen et al.* gewannen aus den bildmorphologisch aktiven BAT Regionen und geeigneten Kontroll-Regionen simultan Gewebeproben. Durch die Anwendung quantitativer *real-time* PCR (*polymerase chain reaction*) konnte eine um etwa 1000-fach höhere Expression von UCP-1 in BAT vs. WAT nachgewiesen werden. Auch andere Marker wie beispielsweise PRDM-16, ein Hauptregulator für die Differenzierung von BAT (*Seale et al.*, 2008), wurden vermehrt exprimiert und bewiesen die Existenz und Aktivität von BAT in den radiologisch determinierten Lokalisationen in derselben Versuchssitzung (*Virtanen et al.*, 2009).

Seitdem gibt es diverse Forschungsansätze um eine möglichst geeignete Methode, die das Volumen und die Aktivität des klassischen humanen BAT genau und vergleichbar

quantifiziert, zu entwickeln. Der Nachweis von BAT durch ein  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT ist der heutige Goldstandard, jedoch aufwendig, teuer und für Studienteilnehmer eine vermeidbare Strahlenbelastung. Weitere bildmorphologische Techniken im Rahmen der Radiologie (z.B.: Magnetresonanztomographie (MRT) und Einzelphotonen-Emissionscomputertomographie (SPECT)), unterschiedliche Tracermoleküle (z.B.:  $^{18}\text{F}$ -FDG und  $^{18}\text{F}$ -fluoro-6-thiaheptadecanoic acid ( $^{18}\text{F}$ THA)) sowie neue Methoden zur Detektion der thermischen Energie von BAT (z.B.: Infrarot-Thermographie oder iButtons<sup>®</sup>) wurden über die Jahre untersucht und evaluiert (Leitner et al., 2017; Chondronikola et al., 2018).

Letztere stellen heutzutage eine nicht-invasive und einfache Art der Methodik dar. Mittels infraroter Thermographie konnte in Menschen nachgewiesen werden, dass die Temperatur in BAT spezifischen Regionen, z.B. supraklavikulär, unter Kälteexposition weniger stark abfällt als in BAT unspezifischen Depots (Lee et al., 2011). Darüber hinaus wiesen *Boon et al.* sogar nach, dass unter Kälteexposition die Temperatur der Haut supraklavikulär steigt und dieser Anstieg positiv mit dem klavikulären BAT Volumen korreliert (Boon et al., 2014). Die hierfür verwendeten kabellosen Temperaturfühler, sogenannte iButtons<sup>®</sup>, konnten die stattfindende Thermogenese über einem aktiven BAT Depot anhand der Veränderung der Oberflächentemperatur messen. Auf diese Weise kann allein anhand der Temperaturveränderung der Haut an spezifischen Lokalisationen des Menschen eine Aussage über die Aktivierung von BAT getätigt werden (van Marken Lichtenbelt et al., 2006).

### 1.2.3. Mechanismen der Aktivierung des braunen Fettgewebes

Säugetiere sind homöotherm. Sie können ihre Körperkerntemperatur engmaschig reguliert auf einem relativ konstanten Niveau aufrechterhalten. Um einer Hypothermie entgegen zu wirken kann der Körper durch Regulation der Durchblutung die Abgabe von Wärme verhindern oder er kann durch eigene Thermogenese (z.B.: Muskelzittern, NST) Wärme erzeugen (Benzinger, 1969; Löffler, 2007). BAT ist eine wichtige Stellgröße dieser Thermoregulation und Hauptorgan der NST.

BAT wird durch Kälteexposition aktiviert. Verantwortlich für die Aktivierung von BAT ist das sympathische Nervensystem (SNS), welches Katecholamine wie Noradrenalin, Adrenalin und Dopamin ausschüttet (Cannon und Nedergaard, 2004). Über  $\beta_3$ -adrenerge Rezeptoren in Tieren und  $\beta_2$ -adrenerge Rezeptoren in Menschen wird die braune Fettzelle vor allem noradrenerg stimuliert (Blondin et al., 2020). Dies führt zur Induktion der Hormon-sensitiven Lipase (HSL) sowie der Triacylglycerin Lipase (ATGL), welche

gespeicherte intrazelluläre TGs in Glycerin und FFAs spalten - es wird die intrazelluläre Lipolyse stimuliert. Die frei gewordene Energie in Form von FFAs wird mittels mitochondrialer  $\beta$ -Oxidation in den Citratzyklus eingebracht und fördert den Aufbau des Protonengradienten über die innere Mitochondrienmembran, welcher letztlich im finalen Schritt der Atmungskette benutzt wird um diese zu entkoppeln und thermische Energie durch Thermogenin zu erzeugen (siehe Kapitel 1.1.2.). Durch den erhöhten Quotienten von Adenosindiphosphat (ADP) und Phosphat zu ATP bei ausbleibender ATP Synthese wird die Atmungskette immer weiter stimuliert und mehr Wärme freigesetzt. Schließlich wird über  $\alpha_2$ -Rezeptoren die Thermogenese Katecholamin-vermittelt jedoch wieder inhibiert (Cannon und Nedergaard, 2004).

Zeitgleich wird durch die noradrenerge Stimulation die Durchblutung von BAT gesteigert um mehr Sauerstoff für die Zellatmung zu gewinnen und ebenso die Expression von UCP-1 in BAT erhöht um die Thermogenese zusätzlich zu maximieren. Kälte als Stimulus augmentiert die noradrenerge Regulation der UCP-1 abhängigen Thermogenese (Cannon und Nedergaard, 2004). Die UCP-1 unabhängige Thermogenese wird durch Kälte nicht beeinflusst. Wenn man noradrenerge  $\beta$ -Rezeptoren beispielsweise mit Propanolol, einem selektiven  $\beta$ -Blocker, inhibiert, dann zittern Tiere im Versuchsmodell, weil sie BAT nicht ansteuern können (Schönbaum et al., 1966). Das gleiche gilt für Mäuse, die ohne das UCP-1 Gen gezüchtet wurden (Golozoubova et al., 2001). Andererseits, wenn man die Expression von Genen der intrazellulären Lipolyse ausschaltet, werden vermehrt Glukose und nicht-veresterte Fettsäuren (*non-esterified fatty acids* (NEFA)) aus dem Blut in die braune Fettzelle transportiert. Es wird die membranständige Lipoproteinlipase (LPL) aktiviert und von BAT selbst synthetisiert, welche zirkulierende Chylomikronen und *Very Low-Density Lipoproteine* (VLDL) Insulin-abhängig in Glycerin und FFAs spaltet. Diese FFAs können dann durch Diffusion oder Transporter-vermittelt der braunen Fettzelle zur Wärmeerzeugung zur Verfügung gestellt werden (Löffler, 2007; Carpentier et al., 2018). Die noradrenerg vermittelte intrazelluläre Lipolyse ist zwar der Hauptmechanismus um chemische Energie für die Thermogenese zur Verfügung zu stellen, aber nicht so essentiell für die NST von BAT, wie Noradrenalin und UCP-1 (Carpentier et al., 2018). Darüber hinaus konnte *in vitro* nachgewiesen werden, dass auch Dopamin die Thermogenese über D1-ähnliche Rezeptoren stimuliert, sowie einen positiven Effekt auf die Zunahme der braunen Zellmasse hat (Kohlie et al., 2017).

Glukose als Energiesubstrat neben FFAs wird, wie oben bereits beschrieben, im aktiven BAT Zustand ebenfalls erheblich in braune Fettzellen aufgenommen (Bahler et al.,

2016). Gerade auf die Masse von braunem Fettgewebe gesehen, ist die Menge der Glukoseaufnahme in BAT im Vergleich zu anderen Organen wie der Skelettmuskulatur während der Kälteexposition enorm. Die Aufnahme geschieht durch die Insulin-abhängige Translokation von Glukosetransporter (GLUT) Typ 4 an die Oberfläche der braunen Fettzelle, denn BAT ist ein Insulin-sensitives Organ (Orava et al., 2011). Glukose kann dann sowohl als direktes Substrat für die Glykolyse und den Citratzyklus in der BAT Zelle genutzt werden um eine aktuell statt findende Thermogenese mit anzutreiben; Glukose könnte aber auch als Baustein für die intrazelluläre *de-novo* Lipogenese von TGs für spätere Kälteperioden fungieren (Cannon und Nedergaard, 2004).

### 1.3. Metabolische Relevanz des aktiven braunen Fettgewebes für den Menschen

#### 1.3.1. Grundlagen der Insulin-, Glukose- und Lipidregulation

Insulin ist das wichtigste anabole Peptidhormon des Körpers. Es besteht aus 51 Aminosäuren und aus zwei Peptidketten die durch zwei Disulfidbrücken kovalent miteinander verknüpft sind. Post-translational wird aus Präproinsulin, Proinsulin, welches durch Abspaltung eines C-Peptids die endgültige Struktur von Insulin annimmt. Gespeichert in Vesikeln des Golgi-Apparat können Insulin und C-Peptid bei Stimulation in äquimolarem Verhältnis exozytotisch ins Blut abgegeben werden (Löffler, 2007). Die Messung des C-Peptids ermöglicht einen genauen Rückschluss auf die endogene Insulinproduktion. Seine Halbwertszeit im Blut ist deutlich länger als die des Insulins. Dies wird sich beispielsweise bei der Diagnostik des Diabetes mellitus Typ 1 zu Nutze gemacht.

Insulin wird in den  $\beta$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln des endokrinen Pankreas synthetisiert und ist das einzige Hormon, welches die Plasmaglukosekonzentration senken kann (Löffler, 2007). Die Veränderung der Plasmaglukosekonzentration ist der wichtigste Stimulus zur Ausschüttung von Insulin. Über GLUT-2 Transporter wird Glukose im Blut Insulin-unabhängig in die Pankreaszelle aufgenommen und über die Glukokinase der Glykolyse zur Verfügung gestellt (Thorens, 2015). Die Glukokinase, welche nur im Pankreas und in der Leber vorkommt, hat einen höheren  $K_M$ -Wert, also eine niedrigere Affinität für ihr Substrat. So stimulieren erst größere Veränderungen der Glukosekonzentration im Blut (2-3 mmol/l bis ca. 15 mmol/l) die Insulinsekretion (Löffler, 2007). Auch ein Anstieg von Aminosäuren wie Leuzin und Arginin stimuliert die Insulinausschüttung, ebenso ein Anstieg von FFAs im Blut durch Stimulation der LPL

(Schmidt et al., 2011). Verstärkt wird die Insulinantwort zudem durch Inkretine des Gastrointestinaltraktes (Löffler, 2007).

Die Insulinausschüttung erfolgt pulsatil und biphasisch. Die schnelle Insulinantwort erfolgt innerhalb der ersten 10 Minuten nach einem Plasmaglukosepeak im Blut (Schmidt et al., 2011). Diese wird auch als *first phase insulin response* (FPIR) bezeichnet und stellt ein Maß für die sekretorische  $\beta$ -Zell Kapazität der Langerhans'schen Inseln dar (Tripathy et al., 2003). Die bereits verfügbare Insulingranula wird entleert. Anschließend folgt die langsame Insulinsekretion, welche eine kurzfristige Hyperglykämie graduell und kontinuierlich ausgleicht, so lange es nicht zu einer erneuten Stimulation kommt. Für diesen Teil müssen neue Vesikel rekrutiert werden. Bei anhaltend hoher Blutglukose nimmt die Insulinausschüttung nach etwa 2-3 Stunden ab. Gehemmt wird die Insulinsekretion beispielsweise durch Somatostatin aus den  $\delta$ -Zellen des Pankreas oder noradrenerg über  $\alpha_2$ -Rezeptoren an der  $\beta$ -Zelle. Der Gegenspieler des Insulins im Hungerzustand ist Glukagon (Schmidt et al., 2011).

Insulin ist für die Speicherung von Energiesubstraten verantwortlich und ist ein wichtiger Regulator enzymatischer Prozess, die die Energiehomöostase beeinflussen. Es gehört neben dem Hormon Leptin zu den Adipositassignalen, welche den Kontrollzentren des Hypothalamus eine Rückmeldung über den aktuellen Ernährungszustand des Körpers liefern und einen wesentlichen Einfluss auf die Langzeitregulation des Fettgewebes haben (Schmidt et al., 2011). Über Bindung an den Insulin-Rezeptor wirkt Insulin an verschiedenen Geweben, wie z.B. Muskel- und Fettgewebe. Über GLUT-4 wird Glukose Insulin-abhängig aufgenommen und verstoffwechselt. Insulin induziert darüber hinaus auch die LPL und so den Abbau von Chylomikronen und VLDL zur Speicherung von TGs im Fettgewebe oder zur Substratbereitstellung für die Thermogenese in BAT (s.o. Kapitel 1.2.3.) (Williams, 2008; Schmidt et al., 2011; Carpentier et al., 2018).

### 1.3.2. Positive metabolische Effekte durch aktiviertes braunes Fettgewebe

Tierexperimentelle und humane Studien deuten auf einen engen Zusammenhang zwischen aktiviertem BAT und metabolischen Veränderungen.

Im Mausmodell konnten *Bartelt et al.* zeigen, dass durch die Aktivierung von BAT mit Hilfe von Kälte eine zuvor bestehende Hypertriglyzeridämie in genetisch veränderten Tieren innerhalb von Stunden normalisiert wurde. Ein durchgeführter oraler Fetttoleranztest führte in der kalten Bedingung im Vergleich zur thermoneutralen Bedingung zu keinem Anstieg von TGs im Blut. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass die Aufnahme von TGs aus

zirkulierenden Lipoproteinen selektiv in BAT, im Vergleich zum Muskelgewebe, erhöht war und eine erhöhte Permeabilität des Endothels dies positiv unterstützte (Bartelt et al., 2011). Eine Steigerung des Fettsäureumsatzes, sowie eine Steigerung des Glukoseumsatzes in Kälte-aktiviertem BAT konnte in einem humanen Studienkollektiv ebenfalls nuklearmedizinisch nachgewiesen werden. Dabei wurden markierte NEFAs überwiegend durch aktives BAT aufgenommen und nicht von WAT oder der Skelettmuskulatur. Jedoch wurden hier keine zirkulierenden Lipoproteine untersucht wie bei *Bartelt et al.* und freie TGs veränderten ihre Konzentration im Blut während der Kälteexposition nicht (Ouellet et al., 2012). Bildmorphologisch konnte aber demonstriert werden, dass BAT mehrheitlich intrazelluläre TG-Speicher aufbrauchte und dass die unmittelbar frei werdenden intrazellulären FFAs für die Thermogenese oxidiert wurden (Ouellet et al., 2012; Carpentier et al., 2018). Aktiviertes BAT griff somit nachweislich an verschiedenen Stellen in die Regulation des Lipidhaushaltes sowohl in Tieren als auch in Menschen ein.

Der Glukosemetabolismus wird ebenfalls durch die Aktivität von BAT beeinflusst. Ein größeres Volumen von aktivem BAT geht mit einer verbesserten Glukosetoleranz und einer erhöhten Insulinsensitivität einher (Chondronikola et al., 2014). BAT positive, schlanke Probanden nahmen nachdem sie durch Kälte stimuliert wurden nicht nur vermehrt Glukose in aktiviertem BAT auf, sondern metabolisierten auch grundsätzlich mehr Glukose (Chondronikola et al., 2014). Zusätzlich wird die Glukose Aufnahme in BAT unabhängig von dessen Aktivitätsstatus günstig durch Insulin beeinflusst (Orava et al., 2011). Dieser Effekt wird durch Kälte aktiviertes BAT deutlich verstärkt und optimiert so die periphere Insulinsensitivität insgesamt im Körper (Chondronikola et al., 2014). Die erfolgreiche Transplantation von allogenem BAT in Mäusen unterstreicht diese Effekte ebenfalls. Es konnte gezeigt werden, dass ein vergrößertes BAT Volumen durch eine Transplantation die negativen Folgen einer fett-reichen Diät verhindert. Insulinresistenz und eine gestörte Glukosetoleranz sind klassische Konsequenzen einer fettreichen Diät, doch in Abhängigkeit vom transplantierten BAT Volumen kam es dennoch zu einer Verbesserung der Glukosetoleranz und Insulinsensitivität (Stanford et al., 2013). BAT scheint also einen metabolisch gesunden Phänotyp zu unterstützen.

### 1.3.3. Das Potenzial braunen Fettgewebes im Kampf gegen Adipositas und Folgeerkrankungen

Klassisches BAT kann in verschiedenen Stadien im Körper des Menschen vorliegen. Für eine maximale Aktivierung und Rekrutierung ist sowohl die Anzahl und Proliferationsrate

der braunen Fettzellen entscheidend, ihre Differenzierung von Präadipozyten zu Adipozyten, die lokale Innervation und Vaskularisierung des Gewebes als auch die Mitochondriendichte und UCP-1 Anzahl innerhalb der braunen Zelle (Cannon und Nedergaard, 2004). Gleichzeitig spielen beiges Fettgewebe sowie das Potenzial WAT zu bräunen („Browning“) eine wichtige Rolle um das vollständige metabolische Ausmaß der verschiedenen Fettgewebsarten für den Energiestoffwechsel des Menschen einzuschätzen.

Durch seine außerordentliche Stoffwechselaktivität hat BAT Aufmerksamkeit in der Adipositasforschung erhalten. Gerade weil Adipositas ein zentraler Risikofaktor für die Entwicklung eines DM2 sowie des metabolischen Syndroms ist, stellen ein gesteigerter Energieverbrauch, die Reduktion von Fettgewebe und ein damit einhergehender Gewichtsverlust essentielle Angriffspunkte im Kampf gegen die zunehmende Prävalenz von Adipositas dar.

Für die Relevanz im menschlichen Metabolismus ist festzuhalten, dass Kälte-Stimulation und die damit einhergehende Aktivierung des Sympathikus eine erhöhte Aufnahme von Glukose in BAT fördern, sowie die Verbrennung von FFAs ankurbeln. Diese Mechanismen korrelieren positiv mit einer vermehrten Perfusion von BAT und mit einer gesteigerten REE. Eine erhöhte Perfusion von BAT kann zugleich mit aktiver Thermogenese assoziiert sein (Orava et al., 2011), ist aber nicht zwingend erforderlich (Blondin et al., 2015). Eine gesteigerte Stoffwechselaktivität und Thermogenese von BAT durch die Kälte bedingte SNS Stimulation wird jedoch grundsätzlich beobachtet. Eine verlängerte oder chronische Kälte-Stimulation bewirkt sogar eine Reduktion des Körperfetts im Menschen und hat einen Einfluss auf die Glukosetoleranz und Insulinsensitivität, selbst in Menschen mit initial verminderter BAT Aktivität (Chondronikola et al., 2014; Yoneshiro et al., 2013). Umgekehrt führt ein totaler Mangel an BAT im Tierversuch zu Adipositas und Kälteintoleranz (Lowell et al., 1993).

BAT besitzt ferner eine enorme Plastizität (Fenzl und Kiefer, 2013). Das bedeutet, vorhandenes BAT kann nicht aktiv sein, aber rekrutiert werden. Patienten, die beispielsweise vor und nach bariatrischen Operationen hinsichtlich der BAT Aktivität untersucht wurden, wiesen eine erhöhte BAT Aktivität im Zusammenhang mit ihrem Gewichtsverlust nach einem Jahr auf (Vijgen et al., 2012). Die Möglichkeit auch WAT zu rekrutieren durch sogenanntes „Browning“ und damit ein größeres Volumen an energetisch aktivem Fettgewebe zu erzielen sowie eine pharmakologische Aktivierung vorhandener, aber inaktiver BAT Depots, sind Ziele aktueller wissenschaftlicher Forschung.

#### 1.4. Ziele und Fragestellung

Vor dem Hintergrund der dargestellten Studien existieren multiple positive metabolische Effekte von stoffwechselaktivem BAT in Menschen. Das BAT und NST eine Rolle für die menschliche Energiehomöostase und einen gesunden metabolischen Phänotyp spielen, ist sehr wahrscheinlich.

Die Datenlage zu den metabolischen Effekten von aktiviertem BAT in Menschen mit Adipositas ist eher spärlich (Wang et al., 2011; Vijgen et al., 2012; Orava et al., 2013). Gerade Menschen mit Adipositas Grad I sind eine primäre Zielgruppe, für die aktiviertes BAT klinisch und therapeutisch eine präventive Bedeutung haben könnte. Obgleich, dass die Aktivität von BAT und der BMI negativ korrelieren (Cypess et al., 2009; Ouellet et al., 2011), ist es besonders wichtig metabolische Effekte durch eine Kälte-induzierte BAT Aktivierung auch in dieser Population zu untersuchen um die wesentlichen Signalwege im Zusammenhang mit BAT zu verstehen.

Die hier vorliegende Arbeit untersucht Auswirkungen von BAT Aktivität und NST durch prolongierte Kälte-Stimulation (5h) in vierzehn männlichen, metabolisch gesunden Probanden mit Adipositas Grad I. Veränderungen von Neurotransmittern durch das Kälte-aktivierte SNS wurden analysiert. Zudem wurden Effekte einer Kälte-induziertem BAT Aktivierung auf die Glukosetoleranz, die sekretorische Leistung des Inselorgans und die periphere Insulinsensitivität mit Hilfe des Botnia Clamps untersucht (Tripathy et al., 2003). Ferner wurden dermale Temperaturfühler (iButtons<sup>®</sup>) als Nachweismethode von aktiviertem BAT durch die Messung thermischer Energie eingesetzt.

##### Folgende Hypothesen wurden explizit getestet:

- a) aktiviertes BAT führt zur Freisetzung von Wärme und damit zu einem geringeren Abfall der oberflächlichen Hauttemperatur über BAT Depots.
- b) die Kälte-induzierte Aktivierung von BAT wird bei Menschen mit Adipositas Grad I auch über eine Steigerung der Sympathikusaktivität vermittelt.
- c) durch Kälteexposition aktiviertes BAT führt bei metabolisch gesunden Menschen mit Adipositas Grad I
  - i) zu einer Verbesserung der peripheren Insulinsensitivität bei unveränderter  $\beta$ -Zell Kapazität.
  - ii) zu einer Veränderung relevanter Parameter des Lipidstoffwechsels.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Probanden

An dieser klinisch-experimentellen Studie nahmen vierzehn gesunde, männliche Probanden im Alter zwischen 20 und 31 Jahren (Durchschnittsalter  $25,07 \pm 0,71$  Jahre) mit einem BMI von durchschnittlich  $31,84 \pm 0,52$  kg/m<sup>2</sup> teil. Alle Teilnehmer hatten per Definition eine Adipositas Grad I.

Die geeigneten Probanden wurden mittels öffentlicher Aushänge am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Lübeck (UKSH Lübeck), an der Universität zu Lübeck und an der Fachhochschule Lübeck gefunden. Darüber hinaus wurden informative Emails über den offiziellen Universitäts-Studierendenverteiler versendet sowie ein Ebaykleinanzeigen-Inserat erstellt, um den Radius der Studienteilnehmer zu vergrößern. Alle potenziellen Interessenten wurden zu einem ersten Vorstellungstermin eingeladen. Eine ausführliche Aufklärung über den Versuchsablauf der Studie, die damit verbundenen Risiken und die Möglichkeit des vorzeitigen Beendens der Teilnahme fand statt. Gleichzeitig wurde die Eignung zum Studieneinschluss medizinisch durch ein umfassendes Anamnesegespräch, durch eine körperliche Untersuchung mit Errechnung des aktuellen BMIs und durch eine Blutanalyse ermittelt. Die rekrutierten Studienteilnehmer zeigten in der körperlichen Untersuchung altersentsprechende Normalbefunde. Die Blutanalyse schloss Werte der Blutzellen, der Gerinnung, der Leber- und Nierenfunktion, des Fettstoffwechsels, der Schilddrüsenfunktion sowie den Blutzucker und Hämoglobin A1c Wert mit ein. Diese mussten in den entsprechenden Referenzbereichen des bestimmenden Labors liegen.

Ausschlusskriterien für Probanden waren akute und chronische internistische oder neurologische Erkrankungen, Bluthochdruck, Alkohol- und Nikotinabusus, regelmäßige Medikamenteneinnahme, Leistungssport (z.B. Marathonläufer) und besondere Belastungssituationen. Zusätzlich durfte weder bei ihnen noch bei ihren Eltern ein DMT2 bekannt sein. Studienteilnehmer, deren Freizeitgestaltung unter extremen Temperaturen stattfand (z.B.: Eisbaden/-surfen), wurden ebenfalls von der Studie ausgeschlossen. Ferner nahmen die Probanden an keiner anderen Studie teil und wurden instruiert Blutspenden und eine Diät für die Dauer der Versuchsreihe zu unterlassen.

Nach der ausführlichen mündlichen und schriftlichen Aufklärung und Untersuchung, sowie ausreichender Bedenkzeit, willigten alle Teilnehmer mündlich und schriftlich vor

Studienbeginn ein. Nach Abschluss aller Versuchssitzungen wurden die Probanden mit einer Aufwandsentschädigung von 150 € honoriert. Die Studie wurde im Einklang mit der Deklaration von Helsinki durch die Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt (Aktenzeichen 12-030).

## 2.2. Studiendesign und Versuchsaufbau

In der oben genannten Studie handelt es sich um eine balancierte *within-subject* Studie im *crossover*-Design. Die vierzehn ausgewählten, metabolisch gesunden männlichen Probanden wurden an zwei Versuchstagen zwei unterschiedlichen Temperaturbedingungen ausgesetzt: zum einen der Kontrollbedingung bei 25°C (Bedingung 25°C) und zum anderen der durch moderate Kälte BAT aktivierenden Bedingung bei 16°C (Bedingung 16°C).

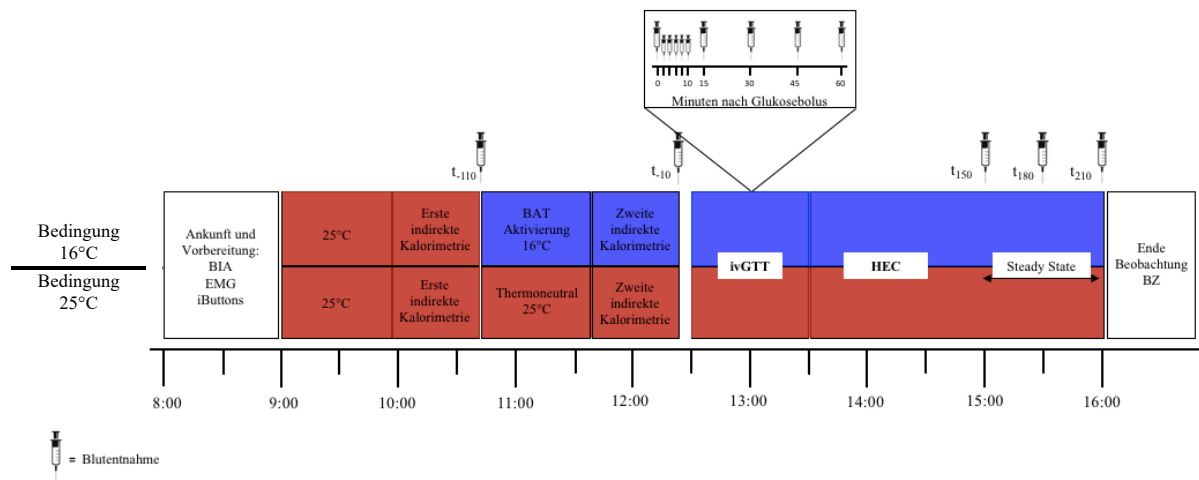
Die Simulation der Temperatur erfolgte bei den Studienteilnehmern mit Hilfe eines durch Wasser gekühlten Ganzkörperanzugs (Iwen et al., 2011). Über einen Umwälzkühler konnte die Wassertemperatur in eingenähten Kunststoffschläuchen des Ganzkörperanzugs (ThermoFlash, Buchenberg, Deutschland) Grad-genau eingestellt und über die Versuchssitzung konstant gehalten werden. Beide Bedingungen wurden in randomisierter Reihenfolge ohne die vorzeitige Kenntnis der Probanden über den jeweiligen Versuchstag im Intervall von mindestens zwei und höchstens zwölf Wochen durchgeführt.

Am jeweiligen Versuchstag erschienen die Studienteilnehmer nüchtern um 08:00 Uhr im Haus 50, dem Institut für Neuroendokrinologie des UKSH Lübeck. Erneut wurde das mündliche Einverständnis zur Versuchsteilnahme eingeholt. Alle Probanden waren instruiert worden am Vortag nicht später als um 20:00 Uhr ihr Abendessen einzunehmen, sowie spätestens um 23:00 Uhr schlafen zu gehen. Zudem sollte auf eine Alkohol- oder Koffeineinnahme in den letzten 12h verzichtet werden. Ein standardisiertes Interview zu Beginn der Versuchssitzung gab Aufschluss über die Einhaltung der entsprechenden Vorgaben sowie über das aktuelle Befinden des teilnehmenden Probanden. Im Anschluss erhielten die Studienteilnehmer für die Dauer des Versuchstages einheitliche lange Unterwäsche und ihr aktuelles Körpergewicht wurde mit einer kalibrierten Personenwaage (Seca, Hamburg, Deutschland) ermittelt.

Um die genaue Körperzusammensetzung der Probanden zu bestimmen wurde eine bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) durchgeführt (s.u. Darstellung der Einzeluntersuchungen). Nachfolgend erhielten die Teilnehmer zur kontinuierlichen Messung der Herzratenvariabilität zwei initialisierte Actiheart-Sensoren (CamNTEch,

Cambridge, England) ober- und unterhalb der Mamille links. Über diese war eine Bestimmung der sympatho-vagalen Balance innerhalb der jeweiligen Temperaturbedingung möglich. Diese Daten wurden im Rahmen der Gesamtstudie erhoben, aber in einer anderen Dissertation ausgewertet (Backhaus, 2018). Zur Aufzeichnung und Überwachung der Muskelaktivität wurden die Teilnehmer mit vier paarigen Elektromyogramm (EMG) - Elektroden am Herz, am rechten Arm (Musculus biceps brachii), am rechten Bauch (M. obliquus externus abdominis und M. rectus abdominis) und am rechten Oberschenkel (M. quadrizeps femoris) ausgestattet. Deren Signal wurde mit einem Verstärker von einem Aufnahmegerät (Neurofax, EEG-9200G, Nihon Kohden Corporation, Tokyo, Japan) im benachbarten Labor aufgezeichnet. Um einen sicheren Kontakt dieser Elektroden auf der Haut zu gewährleisten wurden sie mit zusätzlichen Klebestreifen fixiert.

Die Oberflächentemperatur der Haut wurde über die gesamte Versuchszeit mit Temperatursensoren, iButtons<sup>®</sup> genannt, gemessen (Maxim Integrated Products International Limited Dublin, Irland). Diese wurden ebenfalls mit Fixierungstape auf der Haut angebracht um die Temperatur auf der jeweils rechten und linken Körperhälfte folgender Positionen kontinuierlich zu messen: supraklavikular, infraklavikular, umbilikal, am Oberarm und am Oberschenkel (s.u. Darstellung der Einzeluntersuchungen). Anschließend erhielten die Probanden zwei periphere Venenverweilkanülen (G18 Vasofix Braunüle, B. Braun, Melsungen, Deutschland) mit Dreiwegehahn-Aufsatz (Discofix C Dreiwegehahn, B. Braun, Melsungen, Deutschland) um regelmäßig Blut aus der jeweiligen Ellenbeuge zu entnehmen. Über die Dauer von insgesamt 8h lagen die Studienteilnehmer in einem Temperatur-kontrollierten Raum (durchschnittliche Raumtemperatur: 24,5°C) auf dem Rücken in einem Bett. Sie durften lesen, Spielfilme anschauen und sich mit den Betreuern unterhalten. Körperliche Tätigkeiten oder Nahrungsaufnahme waren nicht gestattet. In Abb. 1 ist der Aufbau der Versuchstage schematisch dargestellt.



**Abb. 1:** schematischer Aufbau der Versuchstage. Bedingungen 25°C (rot) und 16°C (rot-blau).

Um 09:00 Uhr legten die Probanden den Ganzkörperanzug immer mit einer voreingestellten Temperatur von 25°C an. Die erste Adaptationsphase von etwa einer Stunde erfolgte um unabhängig von der jeweiligen Versuchsbedingung eine gleiche Basis an den verschiedenen Versuchstagen zu schaffen. Zeitgleich wurde die gegenwärtige Körperkerntemperatur mit einem Ohrthermometer dokumentiert (ThermoScan type 6014, Braun GmbH, Kronberg, Deutschland). Diese Messung wurde stündlich wiederholt. Auch die aktuelle Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit im Studienzimmer wurde notiert. Die Probanden füllten über den gesamten Zeitraum des Versuchs in regelmäßigen Abständen Fragebögen zum aktuellen Wohlbefinden (Visual Analogue Scale) und Symptomlisten (Symptoms Rating Scale) aus. Die Ergebnisse der Fragebögen wurden im Rahmen der Gesamtstudie erhoben, aber in einer anderen Dissertation ausgewertet (Backhaus, 2018).

Nach der ersten Adaptationsphase wurde eine indirekte Kalorimetrie für die Dauer von 45 Minuten durchgeführt. Mit dieser Messung wurde der Basalwert des Ruheenergieverbrauchs des jeweiligen Probanden für den aktuellen Versuchstag ermittelt. Die Messung des REE begann nach Erreichen eines stabilen Stoffwechselgleichgewichts unter der zugehörigen Atemhaube für etwa 30 Minuten. Anschließend erfolgte die erste Blutentnahme ( $t_{-110}$ ) aus der Venenverweilkanüle rechts zur Bestimmung relevanter metabolischer und hormoneller Ausgangswerte, e.g. des Glukose- und Lipidstoffwechsels. Zusätzlich gaben die Probanden eine Urinprobe ab.

Die gewonnenen Proben wurden nach der Abnahme geschwenkt und entsprechend weiterverarbeitet. Abhängig vom zu bestimmenden Endprodukt wurden die Blutproben direkt gekühlt oder bei 4°C und 4000 Umdrehungen/min oder bei Raumtemperatur und 2700

Umdrehungen/min zentrifugiert (SIGMA 4-16K, SIGMA Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Deutschland). Bei den zentrifugierten Proben wurde der Überstand in zuvor markierte Eppendorf-Gefäße pipettiert (Eppendorf Safe Lock Tubes, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) und anschließend bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Am Ende eines jeden Versuchstages wurden alle verarbeiteten Blut- und Urinproben in  $-80^{\circ}\text{C}$  kalten Gefrierschränken im UKSH Lübeck gelagert. Aus diesen wurden später die individuellen metabolischen und hormonellen Analysen durchgeführt.

Nach der abgeschlossenen ersten indirekten Kalorimetrie wurde die Temperatur des Umwälzkühlers je nach Versuchstag und Randomisierung bei  $25^{\circ}\text{C}$  (Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$ ) belassen oder auf  $16^{\circ}\text{C}$  (Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$ ) umgestellt. Das Wasser des Ganzkörperanzuges nahm die entsprechende Temperatur an und eine zweite Adaptationsphase von einer Stunde begann. Die Temperatureinstellung wurde von nun an bis zum Ende des Versuchstages beibehalten. Wenn das abgeleitete EMG Muskelzittern anzeigte, konnte die Temperatur des Umwälzkühlers in  $1^{\circ}\text{C}$ -Schritten erhöht werden bis das elektrisch erfasste Zittern der Muskeln sistierte. Nach der zweiten Adaptationsphase an die jeweilige Temperatur ( $25^{\circ}\text{C}$  vs.  $16^{\circ}\text{C}$ ) wurde erneut eine 45-minütige indirekte Kalorimetrie durchgeführt und der REE für die Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$  oder die Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$  erfasst. Die REE Daten wurden ebenfalls im Rahmen der Gesamtstudie erhoben, aber in einer anderen Dissertation ausgewertet (Backhaus, 2018). Eine weitere Blutentnahme ( $t_{-10}$ ) fand nach Abschluss der zweiten indirekten Kalorimetrie statt. Während der Laufzeit der indirekten Kalorimetrie wurde der sogenannte Botnia Clamp vorbereitet.

Der Botnia Clamp ist eine Kombination aus intravenösem Glukosetoleranztest (ivGTT) und hyperinsulinämen-euglykämien Clampversuch (HEC) nach der von Tripathy et al. beschriebenen standardisierten Technik (Tripathy et al., 2003). Er ist der Goldstandard zur unabhängigen Beurteilung der  $\beta$ -Zell Kapazität der Langerhans'schen Inseln des Pankreas und der peripheren Insulinsensitivität in einer Versuchssitzung. Der ivGTT dauerte insgesamt 60 Minuten ( $t_0$ - $t_{60}$ ). Der danach folgende HEC dauerte insgesamt 150 Minuten ( $t_{60}$ - $t_{210}$ ).

Um 12:30 Uhr wurde der ivGTT begonnen. Ein gewichtsadaptierter, individueller Glukosebolus von  $0,3 \text{ g/kg}$  Körpergewicht wurde intravenös verabreicht (Glucosteril 20% Lösung, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland). Zehn Minuten vor ( $t_{-10}$ ) und unmittelbar nach Applikation des Bolus erfolgte die Bestimmung der Blutglukosekonzentration aus Vollblut zu den Zeitpunkten  $t_0$ , sowie  $2'$ ,  $4'$ ,  $6'$ ,  $8'$ ,  $10'$ ,  $20'$ ,  $30'$ ,  $40'$ ,  $50'$ ,  $60'$ . Parallel wurden Blutentnahmen für die Analysen weiterer relevanter

Parameter zu den Zeitpunkten  $t_0$ , 2', 4', 6', 8', 10', 15', 30', 45', 60' gewonnen, sowie eine Urinprobe zum Zeitpunkt  $t_{60}$ . Analog zum Protokoll von *Tripathy et al.* ermöglicht es der Botnia Clamp die direkte Insulinantwort, die FPIR, zu ermitteln. Mit Hilfe der *Area Under The Curve* (AUC) wurde die Insulinausschüttung in den ersten 10 Minuten nach Glukosebolus im ivGTT errechnet (Tripathy et al., 2003). Die nachfolgenden 50 Minuten werden als zweite und langsame Phase der Insulinsekretion bezeichnet. Die FPIR ist ein Maß für die sekretorische  $\beta$ -Zell-Kapazität des jeweiligen Probanden.

Direkt angeschlossen an den ivGTT begann um 13:30 Uhr ( $t_{60}$ ) der HEC. Die Probanden erhielten intravenös über einen Perfusor (Perfusor fm, B. Braun, Melsungen, Deutschland) Insulin mit einer kontinuierlichen Infusionsrate von 1,0 mU/kg Körpergewicht/min bis zum Ende des HEC (Insuman rapid 40 Internationale Einheiten, Sanofi-Aventis GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland). Die Blutzuckerkonzentration wurde über den gesamten Zeitraum alle 3 bis 5 Minuten mit einem Glukosemessgerät kontrolliert (BIOSEN C-Line, EKF Diagnostics, Barleben, Deutschland). Eine bedarfsgerechte Glukoseinfusionsrate einer 20%igen Glukoselösung stabilisierte die Blutzuckerwerte in einem euglykämischen Zielbereich um 5,0 mmol/l. Ergänzende Blutentnahmen wurden halbstündlich durchgeführt. Die Blutentnahmen am Arm rechts, sowie die getrennte Infusion von Glukose und Insulin am Arm links wurden über Kunststoffinfusionsschläuche vorgenommen (Combidyn Druckschlauch, 1x2 mm, 200cm, transparent; Infusomat Space Leitung, 250 cm; Intrafix Primline, 150cm; B. Braun, Melsungen, Deutschland). Diese führten gemeinsam mit den Kabeln der EMG-Elektroden vom Probanden über eine Wandöffnung in das angrenzende Labor. Zusätzlich wurde die periphere Venenverweilkanüle rechts, über welche die hochfrequenten, regelmäßigen Blutglukosebestimmungen und auch halbstündlichen Blutentnahmen stattfanden, mit einer kontinuierlich, langsam laufenden Ringerinfusions-Lösung (Berlin – Chemie AG, Deutschland) belastet. Dadurch wurde eine Durchgängigkeit der Venenverweilkanüle bis zum Ende des Versuchstages gewährleistet.

Zielparameter des HEC sind der M-Value, definiert als Glukoseinfusionsrate pro kg/Körpergewicht innerhalb der letzten 60 Minuten des Clamps ( $t_{150}-t_{210}$  = Steady State), und der  $S_I$ -Index, definiert als M-Value bezogen auf die im Blut gemessenen Serum-Insulinkonzentrationen im Steady State des HEC. Der M-Value gilt als Maß für die individuelle, periphere Insulinsensitivität. Der  $S_I$ -Index setzt den Glukoseverbrauch ins Verhältnis zur ausgeschütteten Insulinkonzentration. Des Weiteren ist der Dispositionsindex (DI) eine wichtige Zielvariable des Botnia Clamps. Dieser errechnet sich als Produkt aus M-

Value und FPIR (M-Value x FPIR) und gibt Auskunft über die akute Insulinsekretion ( $\beta$ -Zell-Kapazität) angepasst an die vorhandene periphere Insulinsensitivität (Tripathy et al., 2003).

Um 16:00 Uhr wurde der Botnia Clamp beendet und die externe Insulinzufuhr gestoppt. Eine letzte Blutentnahme und eine dritte Urinprobe wurden verarbeitet. Nach einer mindestens einstündigen Überwachung wurden die Studienteilnehmer in einem stabilen Zustand und bei subjektivem Wohlbefinden nach Hause entlassen und an den nachfolgenden Versuchstermin erinnert.

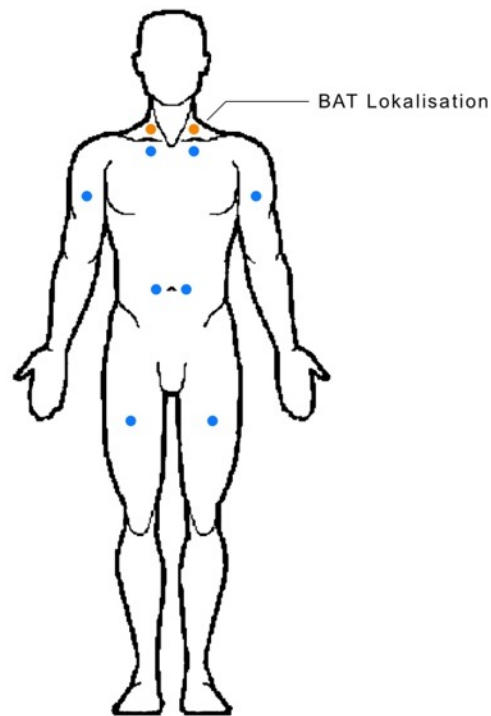
### 2.3. Darstellung der Einzeluntersuchungen

#### 2.3.1. Temperaturregistrierung durch iButtons®

Die Oberflächentemperatur der Haut wurde wie oben bereits beschrieben mit kabellosen Temperatursensoren, sogenannten iButtons®, gemessen. iButtons® sind ca. 16x6 mm<sup>2</sup> große Sensoren, welche die Temperatur in einem bestimmten Zeitintervall mittels Echtzeituhr regelmäßig messen und diese Daten auf einem internen Speicher aufzeichnen. Anschließend können die Daten auf einem Computer ausgelesen und weiter analysiert werden. Die Validität dieser Temperaturfühler zur Messung der oberflächlichen Temperatur der Haut beim Menschen wurde von *Marken Lichtenbelt et al.* bestätigt und mit einer mittleren Messgenauigkeit von -0,09°C (maximal -0,4°C) und einer Präzision von 0,05°C (maximal 0,09°C) angegeben (van Marken Lichtenbelt et al., 2006; Smith et al., 2010). Der iButton® Typ DS1922L-F5#, des Herstellers Maxim Integrated, USA, mit internationalem Vertrieb durch eine Zweigstelle in Dublin, Irland, wurde in dieser Studie verwendet. Dieser Typ weist laut Hersteller eine Temperatur Genauigkeit von  $\pm 0,5^\circ\text{C}$  im Bereich von  $-10^\circ\text{C}$  bis zu  $+65^\circ\text{C}$  bei einer Auflösung von  $0,0625^\circ\text{C}$  (11-Bit) auf (Maxim Integrated Products, Inc., 2015).

Die Oberflächentemperatur der Haut wurde während des gesamten Versuchstages alle 5 Sekunden mit 10 iButtons® an zuvor definierten Lokalisationen beidseits der Mittellinie gemessen: supraklavikulär, infraklavikulär, umbilikal, am Oberarm und am Oberschenkel (siehe Abb. 2) (Boon et al., 2014). Die durchschnittliche Temperatur innerhalb zweier relevanter Zeitintervalle (Basal: Zeitraum der ersten indirekten Kalorimetrie; nach Adaptation: Zeitraum der zweiten indirekten Kalorimetrie) wurde ermittelt und zwischen den Bedingungen  $25^\circ\text{C}$  und  $16^\circ\text{C}$  verglichen. Die durchschnittliche BAT Temperatur wurde mit den beiden supraklavikulären iButtons® ermittelt. Die distale (periphere)

Oberflächentemperatur beinhaltet die durchschnittliche Temperatur der vier iButtons® an Oberarm und Oberschenkel, die proximale (zentrale) Oberflächentemperatur setzt sich aus der Durchschnittstemperatur der vier iButtons® umbilikal und infraklavikulär zusammen. Die Oberflächentemperatur der Haut gesamt beinhaltet alle Temperaturpositionen proximal und distal mit Ausnahme von BAT.



**Abb. 2:** Lokalisationen der iButtons®  
Blau = Referenzbutton proximal und distal; orange = Button BAT Depot supraklavikulär.

### 2.3.2. Bioelektrische Impedanzanalyse

Die BIA ist eine etablierte Methode um die Körperzusammensetzung eines Menschen zu eruiieren (Segal et al., 1985; Kyle et al., 2004). Durch vier spezielle Elektroden (BIANOSTIC AT®, Data Input GmbH, Pöcking, Deutschland) am rechten Handgelenk und am rechten Fußgelenk des jeweiligen Probanden wird ein schwacher Wechselstrom mit einer konstanten Stromstärke (0,8 Milliampere) bei unterschiedlich hohen Frequenzen (5 Hz, 50 Hz und 100 Hz) durch den Körper geleitet und ein elektrisches Feld hergestellt. Der Proband liegt dafür in horizontaler Position auf dem Rücken bei konstanter Raumtemperatur und Luftfeuchtigkeit. Es wird ein Gesamtwiderstand (Impedanz) des Körpers gemessen, der sich aus zwei Anteilen, der Resistance (R) und der Reactance (Xc), zusammensetzt und durch einen Phasenwinkel  $\varphi$  ergänzt wird. Die unterschiedlichen Gewebe (z.B.: Fettgewebe) und

Flüssigkeiten im Körper setzen dem Wechselstrom Widerstände entgegen, deren Analyse Rückschlüsse auf die aktuelle Körperzusammensetzung ermöglicht. Die ermittelten Daten werden in ein herstellereigenes Softwareprogramm zur Auswertung eingetragen. Mit Hilfe weiterer Messdaten, wie der Körpergröße, des Gewichts, des Geschlechts und des Alters des jeweiligen Probanden können dann die drei Körperkompartimente, die Körperzellmasse, die Körperfettmasse und die Extrazellulärmasse errechnet werden und Aufschluss über den Ernährungszustand geben (Kyle et al., 2004; Data Input GmbH, 2019).

In dieser Studie wurden das Impedanzanalysegerät und das entsprechende Zubehör von Nutriguard-MS verwendet (Nutriguard-MS, Data Input GmbH, Pöcking, Deutschland). Es wurden speziell die Magermasse und das Körperfett in Kilogramm mit Hilfe der Software errechnet. Anhand dieser Parameter kann die absolute sowie relative Körperfettmasse bestimmt werden. Dem gegenüber gibt der BMI eine Auskunft über die Körpergesamtmass im Verhältnis zum Körpergewicht. Eine differenziertere Beurteilung von Übergewicht und Adipositas ist durch die BIA möglich (Houtkooper et al., 1996; Frankenfield et al., 2001; Sun et al., 2005).

#### **2.4. Berechnung der Indizes**

Zur indirekten, nicht-invasiven und schnellen Beurteilung der  $\beta$ -Zellfunktion und der Insulinresistenz können Indizes berechnet werden. Diese wurden zwischen den Bedingungen 25°C und 16°C verglichen, sowie mit den Ergebnissen des Botnia Clamps. Insulin-abhängige Indizes sind z.B. der HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance) und der HOMA- $\beta$  (Homeostatic Model Assessment of  $\beta$ -cell function) (Borai et al., 2007). Der HOMA-IR ist ein indirektes Maß für die Insulinresistenz und ein Prädiktor für die Entwicklung eines DMT2, der HOMA- $\beta$  ist ein indirektes Maß für die sekretorische Leistung der  $\beta$ -Zellen (Matthews et al., 1985; Haffner et al., 1996; Katz et al., 2000).

Die Glukose- und Insulinwerte nach Adaptation (Zeitpunkt  $t_{10}$ ) wurden zur Berechnung der Indizes herangezogen (Borai et al., 2007):

$$\text{HOMA-IR: } \text{Insulin (mU/l)} \times \text{Glukose (mmol/l)} / 22,5$$

$$\text{HOMA-}\beta\text{: } 20 \times \text{Insulin (mU/l)} / (\text{Glukose (mmol/l)} - 3,5)$$

## 2.5. Blutzucker- und Hormonbestimmungen

Die Bestimmung der Blutglukosekonzentrationen wurde in vorgefüllten „Safe-Lock“ Reaktionsgefäßen mit Hilfe einer enzymatisch-amperometrischen Chip-Sensor Technologie des EKF-Geräts BIOSEN C-Line (EKF Diagnostics, Barleben, Deutschland) durchgeführt. Eine Kalibration erfolgte alle 60 min. Die Unpräzision wurde laut Hersteller mit einem Variationskoeffizienten von  $\leq 1,5\%$  (12 mmol/l) angegeben.

Die Serumkonzentrationen von Insulin wurden mit Immunoassays (IMMULITE 2000, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Deutschland) bestimmt. Der Intraassay Variationskoeffizient und die analytische Sensitivität betragen für Insulin: Variationskoeffizient:  $<5,3\%$ , analytische Sensitivität: 2,0  $\mu\text{IU/ml}$ . Für die Messung der Katecholamine Noradrenalin, Adrenalin und Dopamin mittels elektrochemischer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie wurde ein Komplettkit, Recipe ClinRep™ Kit, mit entsprechenden Zusätzen verwendet (Recipe Chemicals + Instruments GmbH, 2024). Die Intra- und Interassay Präzision wurde für Noradrenalin mit 6,7% bzw. 5,3%, für Adrenalin mit 7,6% bzw. 4,2% und für Dopamin mit 6,1% bzw. 3,9% angegeben. Lipidstoffwechselfparameter, TAG, HDL und Cholesteringgesamt wurden mit Hilfe des ARCHITECT c Systems (Abbott Diagnostics, Wiesbaden, Deutschland) ermittelt. LDL wurde aus HDL und Cholesteringgesamt errechnet. Der Intraassay Variationskoeffizient und die analytische Sensitivität betragen für TAG:  $<3,6\%$ , 0,06 mmol/l; HDL:  $<1,2\%$ , 0,06 mmol/l und für Cholesteringgesamt:  $<4,0\%$ , 0,13 mmol/l.

## 2.6. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS 21.0 für Windows.

Die erhobenen Daten wurden mittels Varianzanalyse (*analysis of variance*, ANOVA) nach dem allgemeinen linearen Model mit den Faktoren „Bedingung“ (zwei Level, 25°C vs. 16°C) und „Zeit“ (X Level, zeitlicher Verlauf der Messergebnisse oder drei Level, Baseline vs. nach Adaptation vs. Steady-State) getestet. Überwiegend lag eine Normalverteilung der Ergebnisse vor. Die Ergebnisse wurden wenn notwendig, bei verletzter Sphärizität, nach dem Greenhouse-Geisser-Verfahren korrigiert. Für Einzelvergleiche zwischen zwei Messpunkten wurden zweiseitige post-hoc T-Tests für gepaarte Stichproben verwendet. Diese wurden, wenn notwendig, für multiples Testen

mittels Bonferroni-Korrektur adjustiert. Die Konzentrationen von Glukose und Insulin während des ivGTT wurden zudem als Fläche unter der Kurve (AUC) zu bestimmten Zeitpunkten (AUC10min, AUC30min, AUC30-60min, AUC60min) unter Anwendung von SPSS dargestellt. Alle Ergebnisse wurden in Einheiten des Système international als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwertes angegeben. P-Werte  $<0,05$  wurden als statistisch signifikant angenommen. Für die statistische Auswertung der „Baseline“ Werte wurden, wenn nicht anders gekennzeichnet (siehe iButtons<sup>®</sup>), die Werte zum Zeitpunkt  $t_{110}$  herangezogen. „Nach Adaptation“ markierte der Zeitpunkt  $t_{-10}$ , wenn nicht anders gekennzeichnet (siehe iButtons<sup>®</sup>), mit Ausnahme für die Körperkerntemperatur (hier „nach Adaptation“ =  $t_0$ ). Für den „Steady State“ des HEC wurden immer die Mittelwerte der Zeitpunkte  $t_{150-210}$  (letzte 60 Minuten des HEC) berücksichtigt, mit Ausnahme für die Katecholamine und die Körperkerntemperatur (hier „Steady State“ =  $t_{210}$ ).

Microsoft<sup>®</sup> Excel und Microsoft<sup>®</sup> PowerPoint für Mac, Version 16.30, wurden zur graphischen Darstellung der Daten verwendet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Anthropometrische Daten, Blutwerte und Daten der Körperzusammensetzung

Die erhobenen anthropometrischen Daten der Studienteilnehmer sind der Tabelle 1 zu entnehmen. Alle Probanden wurden der Gruppe Adipositas Grad I mit einem BMI zwischen 30,0 und 34,9 kg/m<sup>2</sup> zugeordnet. Die bei der Voruntersuchung erhobenen Blutergebnisse sind ebenfalls in Tabelle 1 abgebildet und zeigen allesamt laborspezifische Normalwerte.

Parameter	Mittelwert
Alter (Jahre)	25,07 ± 0,71
Gewicht (kg)	108,11 ± 2,60
Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )	31,84 ± 0,52
γ-GT (U/l)	29,71 ± 4,85
ASAT (U/l)	33,00 ± 4,38
ALAT (U/l)	36,07 ± 3,69
Cholesterin (mmol/l)	4,22 ± 0,17
Triglyzeride (mmol/l)	1,50 ± 0,19
HbA1c (%)	5,39 ± 0,11

**Tabelle 1:** Anthropometrische Daten und Blutwerte der Studienteilnehmer am Tag der Voruntersuchung. Daten als Mittelwerte ± Standardfehler des Mittelwerts (MW ± SEM); n = 14.

Zwischen den beiden Bedingungen bei 25°C und 16°C zeigte sich eine konstante Körperzusammensetzung (Magermasse: p=0,711; Fettmasse: p=0,927). Der Anteil der Fettmasse lag bei den Probanden durchschnittlich bei 26 % (siehe Tabelle 2).

Parameter	Bedingung		p-Wert
	25,0°C	16,0°C	
Magermasse (kg)	78,82 ± 1,91	79,04 ± 2,07	p=0,711
Fettmasse (kg)	28,68 ± 1,75	28,63 ± 1,62	p=0,927
Fettmasse (%)	26,44 ± 1,22	26,49 ± 1,18	p=0,931

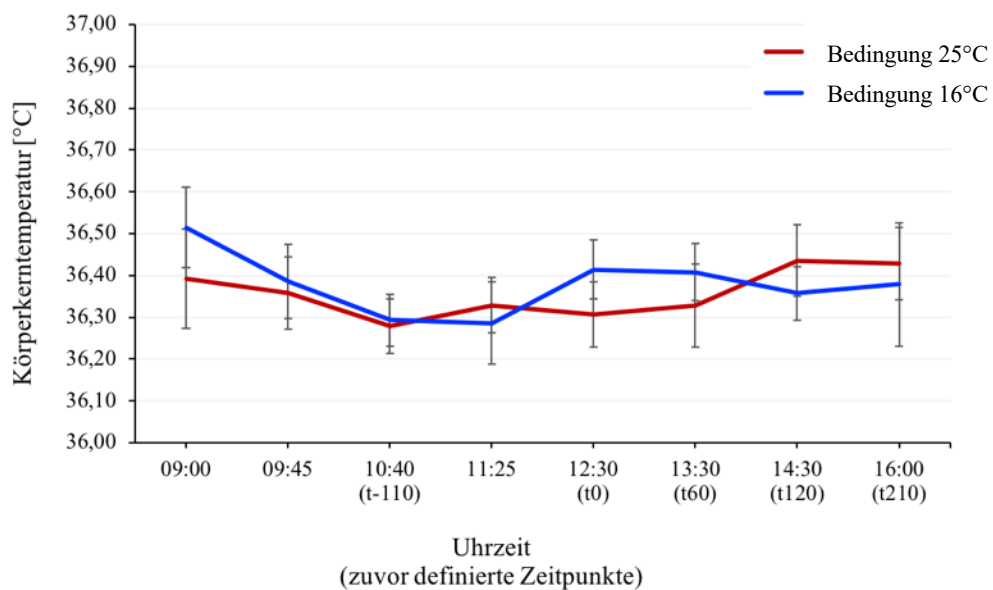
**Tabelle 2:** Auswertung der BIA Daten jeweils vor Versuchsbeginn.

Darstellung der Magermasse und der Fettmasse der Probanden zwischen den Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte ± Standardfehler des Mittelwerts (MW ± SEM); p-Werte durch T-Test für gepaarte Stichproben ermittelt; n=14.

### 3.2. Temperaturanalysen

#### 3.2.1. Körperkerntemperatur

Die Körperkerntemperatur veränderte sich in beiden Bedingungen über einen Zeitraum von sieben Stunden nicht und war zwischen der Bedingung 25°C und 16°C vergleichbar ( $p=0,072$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“;  $p=0,580$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“, Abb. 3).



**Abb. 3:** Grafische Darstellung der Körperkerntemperatur. Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts (MW  $\pm$  SEM);  $n = 14$ .

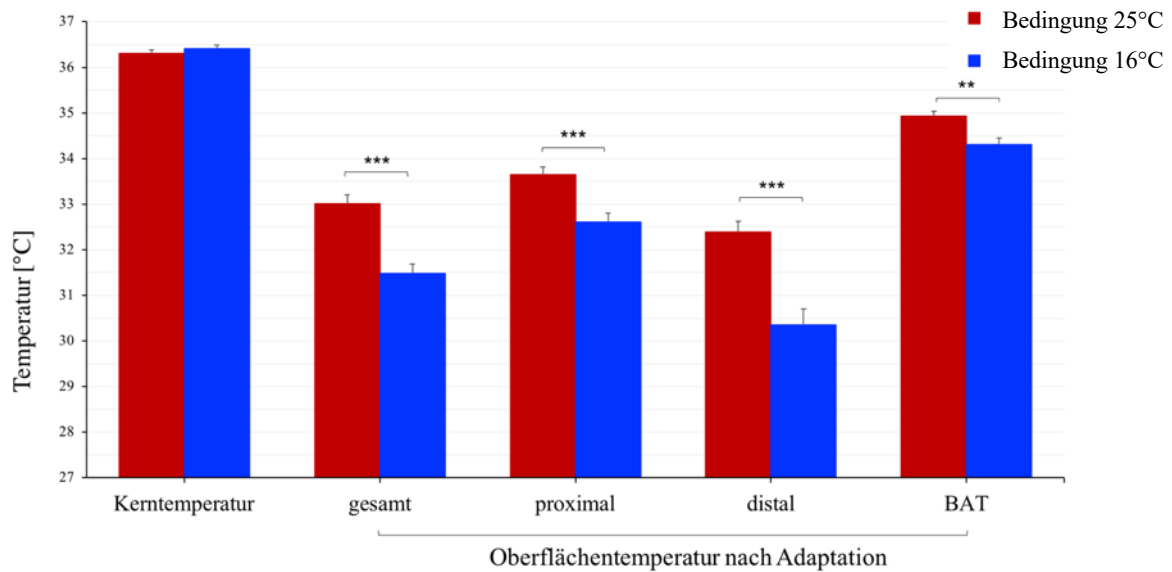
#### 3.2.2. Oberflächentemperatur der Haut

Wie in Abb. 3 zu sehen, war die Körperkerntemperatur während der gesamten Versuchssitzung bei allen Probanden unabhängig von der Bedingung konstant. Wenn man explizit die Zeitpunkte Baseline (hier  $t_{-110}$ ) und nach Adaptation (hier  $t_0$ ) miteinander vergleicht, um eine unmittelbare Auswirkung der Temperaturveränderung (25°C vs. 16°C) zu beurteilen, zeigten sich hier keine Unterschiede ( $p=0,094$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“;  $p=0,054$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“). Die Oberflächentemperatur der Haut, durch iButtons® gemessen, zeigte zwischen den Bedingungen jedoch Temperaturveränderungen.

Über den BAT Depots (supraklavikulär) zeigten sich Unterschiede der Oberflächentemperatur der Haut zwischen den Bedingungen 25°C und 16°C, sowie zwischen den Zeitpunkten Basal und nach Adaptation ( $p=0,040$ , ANOVA Haupteffekt

„Bedingung“;  $p=0,001$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“). Zusätzlich hatte die Aktivierung von BAT einen Effekt auf die zeitliche Veränderung der Oberflächentemperatur an den BAT Positionen ( $p=0,001$ , ANOVA Interaktion „Bedingung x Zeit“). Im Einzelnen zeigte sich über den BAT Positionen basal kein Temperaturunterschied zwischen den Bedingungen (Bedingung 25°C:  $34,97 \pm 0,13$  [°C] vs. Bedingung 16°C:  $34,78 \pm 0,12$  [°C];  $p=0,327$ ). Nach der Adaptation war die Oberflächentemperatur über BAT jedoch zwischen den Bedingungen verschieden, und in der Bedingung 16°C im Vergleich zur Bedingung 25°C erniedrigt (Bedingung 25°C:  $34,95 \pm 0,12$  [°C] vs. Bedingung 16°C:  $34,31 \pm 0,15$  [°C];  $p=0,004$ , Abb. 4). Die Oberflächentemperatur über den BAT Depots hatte abgenommen.

Die weitere Oberflächentemperatur der Haut, unterteilt in proximale, distale und gesamte Oberflächentemperatur, zeigte ebenfalls Veränderungen zwischen den Bedingungen 25°C und 16°C, sowie zwischen den Zeitpunkten Basal und nach Adaptation (proximal, distal, gesamt: alle  $p<0,01$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“; alle  $p<0,001$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“). Zum Zeitpunkt Basal waren die proximale und die gesamte Oberflächentemperatur zwischen den Bedingungen vergleichbar (proximal:  $p=0,939$ ; gesamt:  $p=0,082$ ). Die distale Oberflächentemperatur war basal zwischen den Bedingungen verschieden ( $p=0,026$ ). Nach der Adaptationsphase war die Oberflächentemperatur proximal, distal und gesamt zwischen den Bedingungen ebenfalls unterschiedlich und in der Bedingung 16°C stetig niedriger (proximal, distal, gesamt: alle  $p<0,001$ , Abb. 4).



\*\*  $p < 0,01$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C

\*\*\*  $p < 0,001$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C

**Abb. 4:** *iButton*<sup>®</sup>-Analyse:

Darstellung der Körperkern- und der Körperoberflächentemperatur.

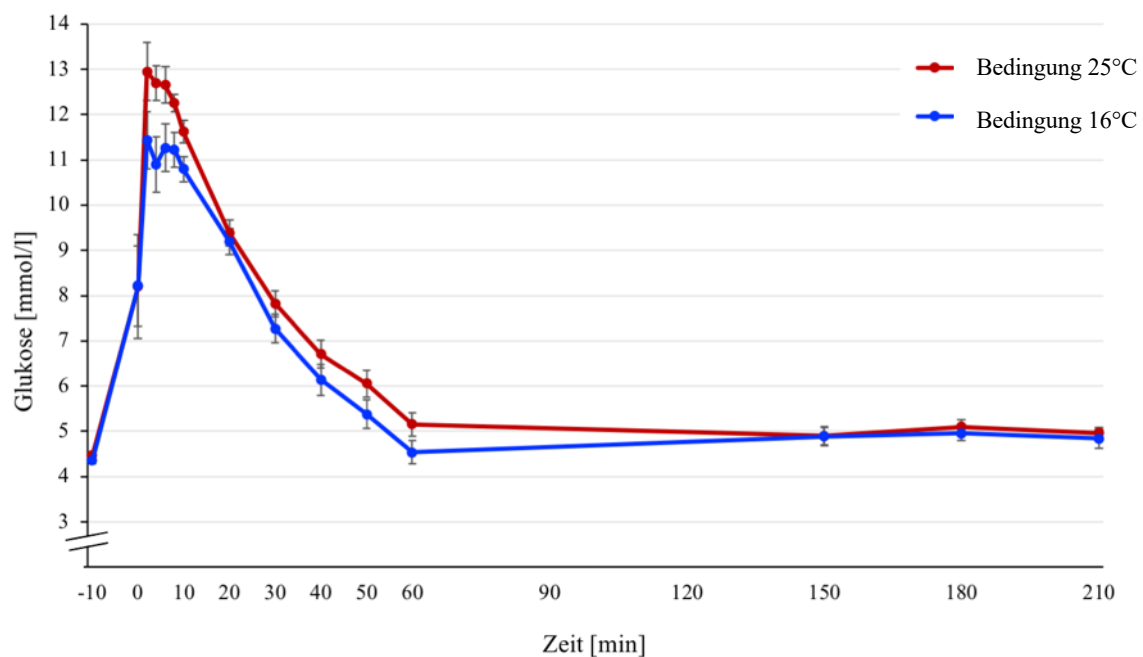
Zeitpunkt  $t_0$  (Körperkerntemperatur) und Zeitintervall „nach Adaptation“ (Oberflächentemperatur) zwischen den Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts (MW  $\pm$  SEM);  $p$ -Werte durch post-hoc T-Test für gepaarte Stichproben ermittelt; Körperkerntemperatur:  $n=14$ , Oberflächentemperatur:  $n=13$ .

Der prozentuale Abfall der Oberflächentemperatur der Haut nach Adaptation fiel zwischen den Bedingungen über typischen BAT Lokalisationen geringer aus ( $-1,82 \pm 0,52$  [%]), als der Abfall der Oberflächentemperatur proximal (vs.  $-3,21 \pm 0,66$  [%];  $p=0,002$ ), distal (vs.  $-6,49 \pm 0,91$  [%];  $p=0,002$ ) und gesamt (vs.  $-4,83 \pm 0,42$  [%];  $p < 0,001$ ).

### 3.3. Botnia Clamp

#### 3.3.1. Blutglukose

In Abb. 5 kann man den Verlauf der Blutglukosekonzentrationen während des kompletten Botnia Clamps in beiden Bedingungen betrachten. Die morgendlichen Blutglukosewerte wurden erstmals nach Adaptation ( $t_{-10}$ ) gemessen und waren zwischen den Bedingungen verschieden; sie waren in der 16°C Bedingung niedriger (Bedingung 25°C:  $4,47 \pm 0,07$  [mmol/l] vs. Bedingung 16°C:  $4,35 \pm 0,06$  [mmol/l];  $p=0,020$ ).

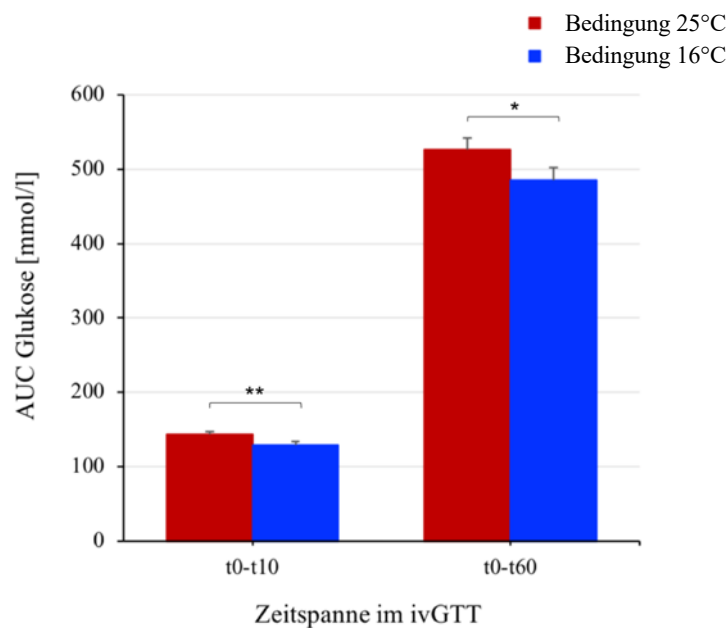


**Abb. 5:** Blutglukosekonzentrationen während des Botnia Clamps (ivGTT und HEC). Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts (MW  $\pm$  SEM);  $n = 14$ .

Über den gesamten ivGTT erkennt man, dass die Blutglukosekonzentrationen durch die BAT Aktivierung signifikant verändert wurden ( $p=0,006$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“). Zum Zeitpunkt ( $t_0$ ), also direkt nach Verabreichung des gewichtsadaptierten intravenösen Glukosebolus waren die Blutglukosewerte vergleichbar ( $p=0,991$ ). Der darauf folgende Blutglukoseanstieg, quantifiziert durch die AUC der ersten 10 Minuten, war in der Bedingung 16°C schwächer ausgeprägt als in der Bedingung 25°C (Bedingung 25°C  $AUC_{10min}$ :  $143,33 \pm 3,75$  [mmol/l]; Bedingung 16°C  $AUC_{10min}$ :  $128,48 \pm 5,25$  [mmol/l];  $p=0,007$ , Abb. 6). Dies ließ sich auch zu einzelnen Zeitpunkten nachweisen ( $t_4$ :  $p=0,001$ ,  $t_6$ :  $p=0,038$ ,  $t_8$ :  $p=0,007$ ,  $t_{10}$ :  $p=0,003$ ). Anschließend fiel die Glukosekonzentration bis zum Ende des ivGTT in beiden Bedingungen herab. Dabei erreichte die Blutglukose in der Bedingung 16°C im Gegensatz zur Bedingung 25°C zum Ende des ivGTT ( $t_{60}$ ) eine

Konzentration wie vor dem ivGTT ( $t_{-10}$ ) (Bedingung 16°C ( $t_{-10}$ ):  $4,35 \pm 0,06$  [mmol/l] vs. Bedingung 16°C ( $t_{60}$ ):  $4,54 \pm 0,26$  [mmol/l];  $p=0,479$ , T-Test für gepaarte Stichproben). Die Blutglukosekonzentration in der Bedingung 25°C war nach dem ivGTT ( $t_{60}$ ) höher als vor dem ivGTT ( $t_{-10}$ ) (Bedingung 25°C ( $t_{-10}$ ):  $4,47 \pm 0,07$  [mmol/l] vs. Bedingung 25°C ( $t_{60}$ ):  $5,16 \pm 0,26$  [mmol/l];  $p=0,012$ , T-Test für gepaarte Stichproben). Insgesamt zeigte sich über die gesamten 60 Minuten des ivGTT eine Verbesserung der Glukosetoleranz der Probanden durch die Aktivierung von BAT mittels Kälte (Bedingung 25°C  $AUC_{60min}$ :  $526,93 \pm 15,07$  [mmol/l]; Bedingung 16°C  $AUC_{60min}$ :  $485,01 \pm 17,43$  [mmol/l];  $p=0,016$ , Abb. 6).

Im zweiten Teil des Botnia Clamps, dem HEC, wurde in den Bedingungen 25°C und 16°C ein Steady State erreicht. Die Blutglukosekonzentrationen der letzten 60 Minuten zu den Zeitpunkten  $t_{150}$ ,  $t_{180}$  und  $t_{210}$  waren im zeitlichen Verlauf und zwischen den Bedingungen nicht unterschiedlich ( $p=0,701$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“;  $p=0,441$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“, Abb. 5). Der Steady State ( $t_{150}$ - $t_{210}$ ) insgesamt war vergleichbar und euglykämisch (Bedingung 25°C:  $4,90 \pm 0,06$  [mmol/l] vs. Bedingung 16°C:  $4,90 \pm 0,04$  [mmol/l];  $p=0,996$ , T-Test für gepaarte Stichproben,  $n=14$ ).



\* $p < 0,05$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C

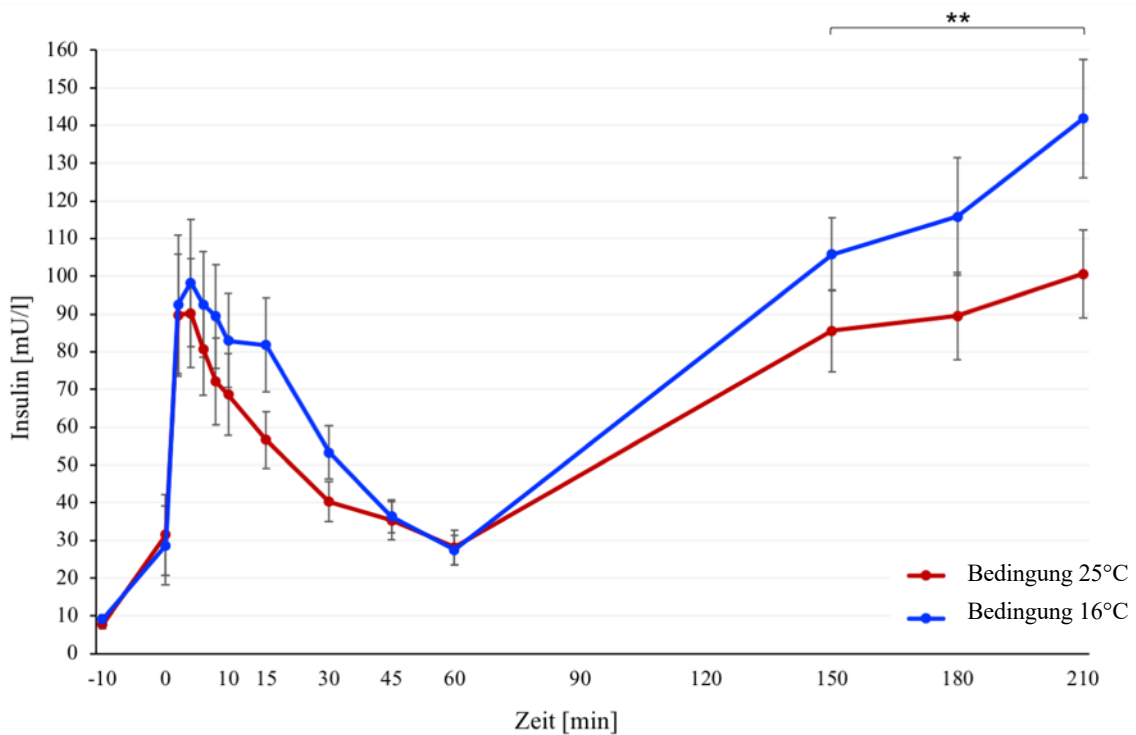
\*\*  $p < 0,01$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C

**Abb. 6:** Area Under The Curve (AUC) der Blutglukosekonzentrationen während des intravenösen Glukosetoleranztests (ivGTT).

Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts (MW  $\pm$  SEM);  $p$ -Werte durch T-Test für gepaarte Stichproben ermittelt;  $n=14$ .

## 3.3.2. Insulin

In Abb. 7 kann man den Verlauf der Insulinkonzentrationen während des Botnia Clamps betrachten. Die Insulinwerte waren nach der Adaptation ( $t_{-10}$ ) zwischen den Bedingungen gleich (Bedingung 25°C:  $7,59 \pm 1,06$  [mU/l] vs. Bedingung 16°C:  $8,88 \pm 1,13$  [mU/l];  $p=0,186$ ).



\*\*  $p < 0,01$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C

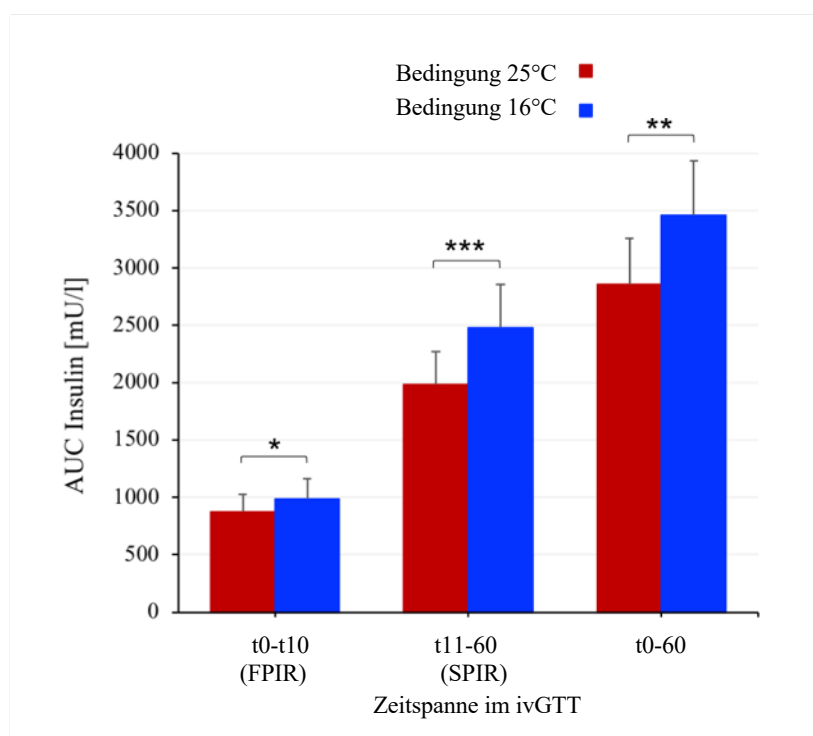
**Abb. 7:** Insulinkonzentrationen während des Botnia Clamps (ivGTT und HEC).

Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts (MW  $\pm$  SEM);  $p$ -Werte durch T-Test für gepaarte Stichproben ermittelt;  $n=13$ .

Die Insulinkonzentrationen im ivGTT waren zwischen den Bedingungen jedoch unterschiedlich ( $p=0,002$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“). Zusätzlich beeinflusste die jeweilige Bedingung die zeitliche Veränderung der Insulinwerte während des ivGTTs ( $p=0,009$ , ANOVA Interaktion „Bedingung x Zeit“). Man sieht initial den erwarteten Anstieg der Insulinkonzentrationen nach Glukosebolus in beiden Versuchssitzungen. Dieser Anstieg, hier quantifiziert durch die AUC der ersten 10 Minuten und gleichzusetzen mit der FPIR, war in der Bedingung 16°C ausgeprägter (Bedingung 25°C  $AUC_{10min}$ :  $870,84 \pm 151,98$  [mU/l] vs. Bedingung 16°C  $AUC_{10min}$ :  $982,98 \pm 174,57$  [mU/l];  $p=0,019$ , Abb. 8). Dies zeigte sich ebenfalls zu einzelnen Zeitpunkten zwischen den Bedingungen während der ersten 10 Minuten ( $t_4$ :  $p=0,030$ ;  $t_6$ :  $p=0,028$ ;  $t_8$ :  $p=0,002$ ;  $t_{10}$ :  $p=0,004$ ). Anschließend fielen

die Insulinkonzentrationen unterschiedlich schnell herab. Erst zum Zeitpunkt  $t_{45}$  war zwischen den Insulinwerten der beiden Bedingungen kein Unterschied mehr feststellbar (Bedingung 25°C:  $32,92 \pm 4,80$  [mU/l] vs. Bedingung 16°C:  $33,72 \pm 3,79$  [mU/l];  $p=0,754$ ). In der zweiten Phase der Insulinausschüttung (*second phase insulin response*, SPIR =  $AUC_{11-60min}$ ) waren die Insulinkonzentrationen im Blut insgesamt in der Bedingung 16°C im Vergleich zur Bedingung 25°C erhöht ( $p<0,001$ , Abb. 8). Es zeigte sich demnach über die gesamten 60 Minuten des ivGTT eine stärkere Insulinausschüttung (Bedingung 25°C  $AUC_{60min}$ :  $2854,33 \pm 405,57$  [mU/l] vs. Bedingung 16°C  $AUC_{60min}$ :  $3460,68 \pm 476,28$  [mU/l];  $p=0,001$ , Abb. 8).

Im zweiten Teil des Botnia Clamps, im HEC, war weder in der Bedingung 25°C noch in der Bedingung 16°C ein Steady State festzustellen, denn die Insulinwerte der letzten 60 Minuten zu den Zeitpunkten  $t_{150}$ ,  $t_{180}$  und  $t_{210}$  waren im zeitlichen Verlauf, als auch zwischen den Bedingungen unterschiedlich ( $p<0,001$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“,  $p=0,003$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“) (siehe Abb. 7). Der Steady State ( $t_{150-210}$ ) war zu jederzeit in beiden Bedingungen hyperinsulinämisch und die Insulinwerte des Steady State ( $t_{150-210}$ ) in der Bedingung 16°C waren insgesamt höher als in der Bedingung 25°C (Bedingung 25°C:  $91,50 \pm 1,96$  [mU/l] vs. Bedingung 16°C:  $118,68 \pm ,92$  [mU/l];  $p=0,007$ ).



\* $p < 0,05$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C  
 \*\*  $p < 0,01$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C  
 \*\*\*  $p < 0,001$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C

**Abb. 8:** Area Under The Curve (AUC) der Insulinkonzentrationen während des intravenösen Glukosetoleranztests (ivGTT).

FPIR: First Phase Insulin Response; SPIR: Second Phase Insulin Response.

Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts (MW  $\pm$  SEM); p-Werte durch T-Test für gepaarte Stichproben ermittelt;  $n=13$ .

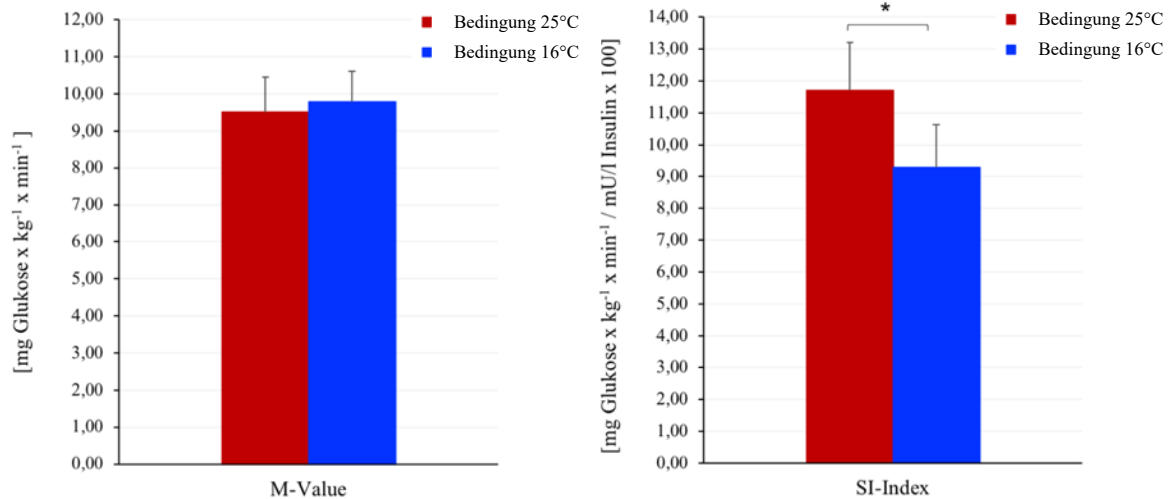
### 3.3.3. Glukoseverbrauch während des Steady State ( $t_{150-210}$ )

Der Glukoseverbrauch der Probanden im Steady State ( $t_{150-210}$ ) des HEC betrug in der Bedingung 25°C  $60572,0 \pm 5444,5$  [mg] und in der Bedingung 16°C  $62681,1 \pm 4917,1$  [mg] und war nicht unterschiedlich zwischen den Bedingungen ( $p=0,610$ , T-Test für gepaarte Stichproben,  $n=14$ ).

### 3.3.4. M-Value, $S_I$ -Index und Dispositionsindex

Zwischen den Bedingungen unterschied sich die periphere Insulinsensitivität (M-Value) nicht ( $p=0,664$ , T-Test für gepaarte Stichproben,  $n=14$ , Abb. 9). Bezog man den M-Value jedoch auf die ausgeschüttete Insulinkonzentration während des Steady States ( $t_{150-210}$ ) des HECs, dann zeigten sich niedrigere Werte des  $S_I$ -Index in der Bedingung 16°C (Bedingung 25°C:  $11,70 \pm 1,50$  [(mg  $\times$  kg $^{-1}$   $\times$  min $^{-1}$ ) / (mU/l)  $\times$  100] vs. Bedingung 16°C:  $9,29 \pm 1,33$  [(mg  $\times$  kg $^{-1}$   $\times$  min $^{-1}$ ) / (mU/l)  $\times$  100];  $p=0,025$ , T-Test für gepaarte Stichproben,  $n=14$ , Abb. 9).

Die jeweilige Bedingung hatte bei den Probanden keinen Effekt auf den DI; dieser zeigte sich zwischen den Bedingungen vergleichbar (Bedingung 25°C:  $7606,28 \pm 853,34$  [(mg x kg<sup>-1</sup> x min<sup>-1</sup>) x (mU/l)] vs. Bedingung 16°C:  $8647,58 \pm 1042,98$  [(mg x kg<sup>-1</sup> x min<sup>-1</sup>) x (mU/l)];  $p=0,164$ , T-Test für gepaarte Stichproben,  $n=14$ ).



\* $p<0,05$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C

**Abb. 9:** Darstellung von M-Value und des SI-Index.

Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts (MW  $\pm$  SEM);  $p$ -Werte durch T-Test für gepaarte Stichproben ermittelt;  $n=14$ .

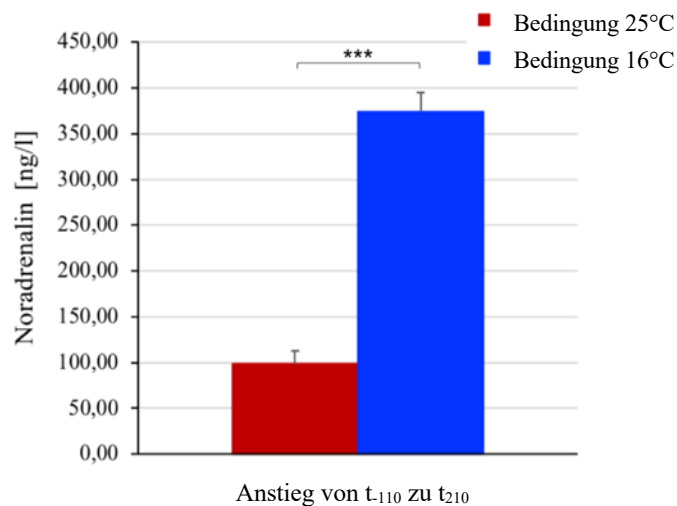
### 3.3.5. HOMA-IR und HOMA- $\beta$

Der HOMA-IR zeigte keinen Unterschied zwischen den Bedingungen (Bedingung 25°C:  $1,54 \pm 0,20$  [(mmol/l) x (mU/l)] vs. Bedingungen 16°C:  $1,77 \pm 0,21$  [(mmol/l) x (mU/l)];  $p=0,216$ , T-Test für gepaarte Stichproben,  $n=14$ ). Der HOMA- $\beta$  fiel in der Bedingung 16°C erheblich höher aus als in der Bedingung 25°C (Bedingung 25°C:  $175,21 \pm 30,81$  [%] vs. Bedingung 16°C:  $229,41 \pm 32,27$  [%];  $p=0,003$ , T-Test für gepaarte Stichproben,  $n=14$ ).

### 3.4. Katecholamine

#### 3.4.1. Noradrenalin

Noradrenalin stieg vom Zeitpunkt Baseline ( $t_{-110}$ ) zum Zeitpunkt Steady State ( $t_{210}$ ) in beiden Bedingungen unterschiedlich an ( $p < 0,001$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“;  $p < 0,001$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“). Die Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$  hatte Einfluss auf die zeitliche Entwicklung der NoradrenalinKonzentration im Blut ( $p < 0,001$ , ANOVA Interaktion „Bedingung x Zeit“). Die Noradrenalinwerte waren zum Zeitpunkt Baseline zwischen den Bedingungen bereits verschieden, aber in der Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$  durchschnittlich höher (Baseline ( $t_{-110}$ ): Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$ :  $289,07 \pm 27,10$  [ng/l] vs. Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$ :  $244,14 \pm 22,42$  [ng/l];  $p = 0,002$ ). Zum Zeitpunkt des Steady State waren die Werte zwischen den Bedingungen ebenfalls verschieden, aber in der Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$  erhöht (Steady State ( $t_{210}$ ): Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$ :  $388,14 \pm 33,84$  [ng/l] vs. Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$ :  $617,57 \pm 24,84$  [ng/l];  $p < 0,001$ ). Der Anstieg von Noradrenalin war hier steiler als in der Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$  (Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$ :  $99,07 \pm 13,95$  [ng/l] vs. Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$ :  $373,43 \pm 21,66$  [ng/l];  $p < 0,001$ , Abb. 10). Der Anstieg der NoradrenalinKonzentration im Blut war um  $135 \pm 19,00$  [%] ausgeprägter in der Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$  im Vergleich zur Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$ .



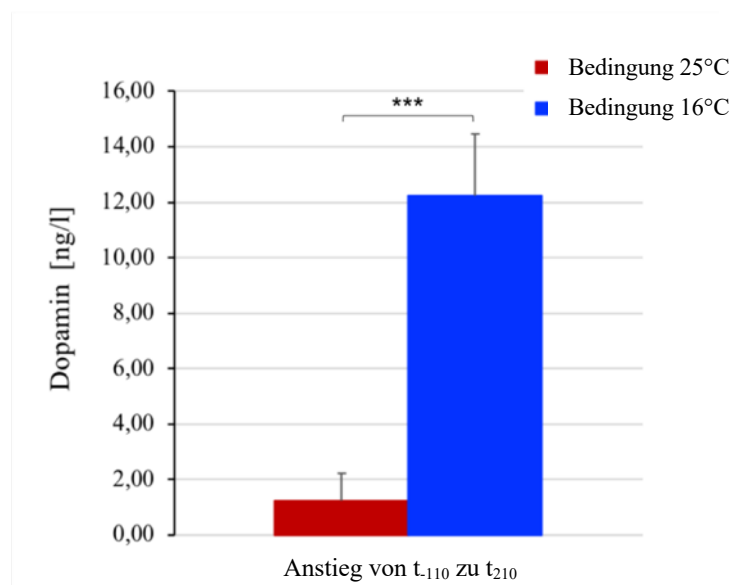
\*\*\* $p < 0,001$ , Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$  vs. Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$

**Abb. 10:** Anstieg der NoradrenalinKonzentration.

Zeitpunkte Baseline ( $t_{-110}$ ) und Steady State ( $t_{210}$ ). Bedingungen  $25^{\circ}\text{C}$  und  $16^{\circ}\text{C}$ . Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts ( $MW \pm SEM$ );  $p$ -Werte durch  $T$ -Test für gepaarte Stichproben ermittelt;  $n = 14$ .

### 3.4.2. Dopamin

Analog zu Noradrenalin wurde die Konzentration von Dopamin zu zwei Messzeitpunkten ( $t_{-110}$  und  $t_{210}$ ) bestimmt. Auch Dopamin stieg zwischen den Zeitpunkten und in beiden Bedingungen unterschiedlich an ( $p < 0,001$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“;  $p = 0,001$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“), denn die zeitliche Veränderung der Konzentration von Dopamin im Blut wurde ebenfalls durch Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$  beeinflusst ( $p < 0,001$ , ANOVA Interaktion „Bedingung x Zeit“). Die Dopaminwerte waren zum Zeitpunkt Baseline zwischen den Bedingungen vergleichbar (Baseline ( $t_{-110}$ ): Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$ :  $18 \pm 0,57$  [ng/l] vs. Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$ :  $17,43 \pm 0,43$  [ng/l];  $p = 0,466$ ). Zum Zeitpunkt des Steady State aber verschieden (Steady State ( $t_{210}$ ): Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$ :  $19,21 \pm 0,87$  [ng/l] vs. Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$ :  $29,64 \pm 2,36$  [ng/l];  $p < 0,001$ ). Dabei war ein signifikanter Anstieg von Dopamin nur in der Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$  vorhanden (Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$ :  $1,21 \pm 1,0$  [ng/l] vs. Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$ :  $12,21 \pm 2,25$  [ng/l];  $p < 0,001$ , Abb. 11); prozentual um  $62,24 \pm 13,02$  [%].



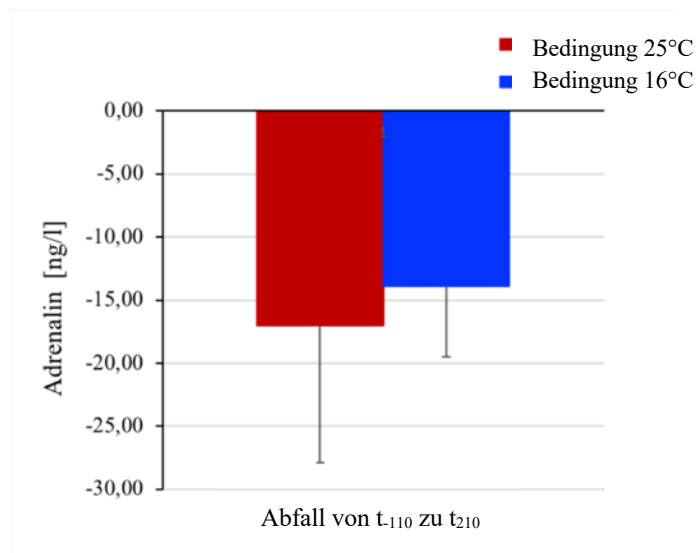
\*\*\* $p < 0,001$ , Bedingung  $25^{\circ}\text{C}$  vs. Bedingung  $16^{\circ}\text{C}$

**Abb. 11:** Anstieg der Dopaminkonzentration.

Zeitpunkte Baseline ( $t_{-110}$ ) und Steady State ( $t_{210}$ ). Bedingungen  $25^{\circ}\text{C}$  und  $16^{\circ}\text{C}$ . Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts ( $MW \pm SEM$ );  $p$ -Werte durch  $T$ -Test für gepaarte Stichproben ermittelt;  $n = 14$ .

### 3.4.3. Adrenalin

Adrenalin sank vom Zeitpunkt Baseline ( $t_{-110}$ ) zum Zeitpunkt Steady State ( $t_{210}$ ) in beiden Bedingungen gleichermaßen ab ( $p=0,037$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“;  $p=0,548$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“). Die jeweilige Bedingung hatte auf den zeitlichen Abfall keinen Einfluss ( $p=0,781$ , ANOVA Interaktion „Bedingung x Zeit“). Die Adrenalinwerte waren zu beiden Zeitpunkten Baseline und Steady State zwischen den Bedingungen gleich (Baseline ( $t_{-110}$ ): Bedingung 25°C:  $41,36 \pm 15,75$  [ng/l] vs. Bedingung 16°C:  $34,64 \pm 7,61$  [ng/l];  $p=0,631$ ; Steady State ( $t_{210}$ ): Bedingung 25°C:  $24,36 \pm 5,90$  [ng/l] vs. Bedingung 16°C:  $20,79 \pm 2,88$  [ng/l];  $p=0,366$ ). Die Abnahme betrug in der Bedingung 25°C  $-17,00 \pm 10,88$  [ng/l] und in der Bedingung 16°C  $-13,53 \pm 17,74$  [ng/l] ( $p=0,781$ , Abb. 12).



**Abb. 12:** Abfall der AdrenalinKonzentration.

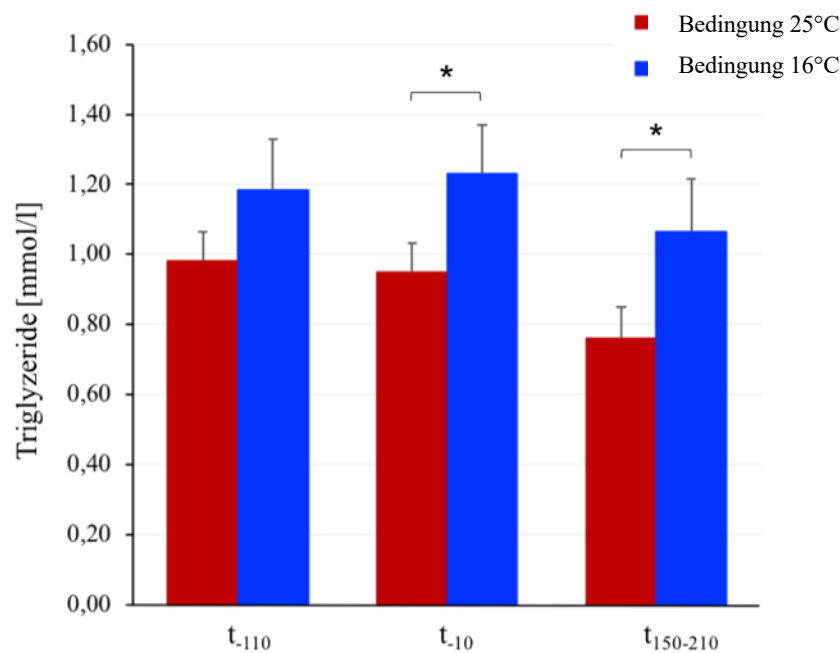
Zeitpunkte Baseline ( $t_{-110}$ ) und Steady State ( $t_{210}$ ). Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts ( $MW \pm SEM$ );  $p$ -Werte durch  $T$ -Test für gepaarte Stichproben ermittelt;  $n=14$ .

## 3.5. Parameter des Lipidstoffwechsels

### 3.5.1. Triglyzeride

Während der Bedingung 16°C veränderte sich die Konzentration der TGs im Blut über die Zeit des Versuchs signifikant (von  $t_{-110}$  zu  $t_{-10}$  zu  $t_{150-210}$ ) ( $p=0,033$  ANOVA Interaktion „Bedingung x Zeit“). Zum Zeitpunkt Baseline ( $t_{-110}$ ) waren die TGs zwischen den Bedingungen 25°C und 16°C gleich (Bedingung 25°C:  $0,98 \pm 0,08$  [mmol/l] vs. Bedingung 16°C:  $1,18 \pm 0,15$  [mmol/l];  $p=0,060$ , Abb. 13). Nach Adaptation ( $t_{-10}$ ) stieg die

Konzentration der TGs in der Bedingung 16°C an, während sie in der Bedingung 25°C sank ( $p=0,016$ , Abb. 13). Auch im Steady State ( $t_{150-210}$ ) waren die Konzentrationen verschieden. In der Bedingung 16°C war die Konzentration an TGs im Blut weiterhin höher als in der Bedingung 25°C (Bedingung 25°C:  $0,76 \pm 0,09$  [mmol/l] vs. Bedingung 16°C:  $1,07 \pm 0,15$  [mmol/l];  $p=0,013$ , Abb. 13).



\* $p < 0,05$ , Bedingung 25°C vs. Bedingung 16°C

**Abb. 13:** Darstellung der Konzentration von Triglyzeriden.

Zeitpunkte Baseline ( $t_{-110}$ ), nach Adaptation ( $t_{-10}$ ), Steady State ( $t_{150-210}$ ). Bedingungen 25°C und 16°C. Daten als Mittelwerte  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts (MW  $\pm$  SEM);  $p$ -Werte durch post-hoc T-Test für gepaarte Stichproben ermittelt;  $n=14$ .

### 3.5.2. Cholesterin<sub>gesamt</sub>, HDL und LDL

Sowohl Cholesterin<sub>gesamt</sub>, HDL und LDL veränderten sich Zeit-abhängig und in beiden Bedingungen vergleichbar (alle  $p < 0,001$ , ANOVA Haupteffekt „Zeit“; Cholesterin<sub>gesamt</sub>:  $p=0,452$ , HDL:  $p=0,422$ , LDL:  $p=0,802$ , ANOVA Haupteffekt „Bedingung“). Zum Zeitpunkt Baseline ( $t_{-110}$ ) waren alle Konzentrationen im Blut zwischen den Bedingungen gleich (Cholesterin<sub>gesamt</sub>:  $p=0,544$ ; HDL:  $p=1,000$ ; LDL:  $p=0,433$ , T-Test für gepaarte Stichproben,  $n=14$ ). Vom Zeitpunkt Baseline ( $t_{-110}$ ) zum Zeitpunkt Steady State ( $t_{150-210}$ ) fielen die Konzentrationen von Cholesterin<sub>gesamt</sub>, HDL und LDL alle ab (Cholesterin<sub>gesamt</sub>, HDL, LDL:  $p < 0,001$ ).

#### 4. Diskussion

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss einer Kälte-induzierten Aktivierung von BAT auf den Glukose- und Lipidstoffwechsel in männlichen, metabolisch gesunden Probanden mit Adipositas Grad I. Dafür wurde durch ein spezielles Kälteprotokoll das SNS stimuliert und so eine Aktivierung von BAT ermöglicht. Die Bedingung 16°C wurde mit einer Kontroll-Bedingung, welche unter Temperaturverhältnissen bei 25°C stattfand, verglichen. Die Auswirkungen der Kälte-induzierten Aktivierung von BAT auf den Energiehaushalt, die sekretorische  $\beta$ -Zellkapazität, die periphere Insulinsensitivität, sowie den Lipidstoffwechsel wurden mittels Botnia-Clamp und der Bestimmung peripherer Blutkonzentrationen von Glukose, Insulin, TG, Cholesterin<sub>gesamt</sub>, HDL und LDL untersucht.

Um eine Aktivierung von BAT nachzuweisen, wurde die Hypothese getestet, dass aktives BAT im Gegensatz zu inaktivem an definierten Lokalisationen (supraklavikulär) zu einer Freisetzung von Wärmeenergie führt. Es konnte gezeigt werden, dass die Oberflächentemperatur der Haut an diesen BAT Positionen trotz der Kältestimulation verhältnismäßig weniger stark herabfiel, als an anderen zentralen und peripheren Positionen der Probanden, als Ausdruck stattfindender Thermogenese. Darüber hinaus konnte eine Steigerung der Sympathikusaktivität nach Kälteexposition durch erhöhte Blutkonzentrationen von Noradrenalin und Dopamin nachgewiesen werden.

Die Hypothesen, dass eine Kälte-induzierte Aktivierung von BAT zu einer Verbesserung der Glukosetoleranz und der peripheren Insulinsensitivität, bei gleichbleibender  $\beta$ -Zell Kapazität, führt, sind in schlanken Menschen untersucht und wurden hier in einem Studienkollektiv mit Adipositas Grad I überprüft. Entgegen der bereits publizierten Ergebnisse wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals eine erhöhte sekretorische Leistung der  $\beta$ -Zellen durch eine Aktivierung von BAT in der Bedingung 16°C im Rahmen des ivGTT festgestellt. Zugleich zeigte sich keine Veränderung der Insulinsensitivität bei gleichem kumulativem Glukoseverbrauch in beiden Versuchsbedingungen während des Botnia Clamps.

Des Weiteren wurde durch die Kälte-induzierte Aktivierung von BAT eine gesteigerte Konzentration von TGs im Blut nachgewiesen, neben sonst unveränderten Parametern des Lipidstoffwechsels.

#### 4.1. Aktivierung von BAT durch das sympathische Nervensystem und Nachweis der Aktivierung durch zitterfreie Thermogenese

Mit Hilfe von prolongierter Kühlung über fünf Stunden durch den ThermoFlash Ganzkörperanzug wurde in dieser Arbeit das SNS aller Probanden mit Adipositas Grad I stimuliert. Der deutliche Anstieg des Neurotransmitters Noradrenalin bestätigt die erwartete gesteigerte Sympathikusaktivität durch Kälteexposition. Die Ausschüttung von Noradrenalin, welches vor allem in den synaptischen Enden adrenerger Neurone gebildet und gespeichert wird, ist für die UCP-1 abhängige Thermogenese von dicht innerviertem BAT essentiell, wie zuvor in hochrangig publizierten Übersichtsarbeiten beschrieben wurde (Bamshad et al., 1999; Cannon und Nedergaard, 2004; Carpentier et al., 2018; Moonen et al., 2019). Dabei ist die Wirkung von Kälte auf das Nebennierenmark zu vernachlässigen, was sich hier in den unveränderten Konzentrationen der Adrenalinspiegel bei verlängerter Kühlung widerspiegelt. Dies ist ebenfalls im Einklang mit der bekannten Literatur (Iwen et al., 2011).

Darüber hinaus war nicht nur die Konzentration von Noradrenalin, sondern auch die Konzentration von Dopamin durch die Kälteexposition in der Bedingung 16°C deutlich gestiegen. Dies konnte bisher *in vivo* nur in Ratten nach Kältestimulation nachgewiesen werden, sowie erstmals in unserer Vorstudie bei schlanken, männlichen Probanden (Blouquit et al., 1996; Iwen et al., 2017). Weil Dopamin in der Katecholaminbiosynthese die unmittelbare Vorstufe von Noradrenalin ist, erscheint eine erhöhte Konzentration von Dopamin physiologisch sinnvoll. Allerdings konnte kürzlich *in vitro* gezeigt werden, dass sich die Masse von Mitochondrien sowie die Thermogenese von mausartigen (murinen) BAT Zellen auch rein dopaminerg über D1-Rezeptoren erhöhen lässt (Kohlie et al., 2017). Zugleich zeigten *Folgueira et al.* tierexperimentell, dass Dopamin-Agonisten (e.g. Bromocriptin) über den zentralen D2-Rezeptor vermittelt die thermische Aktivität von BAT ebenfalls steigern können und mit einer erhöhten REE assoziiert sind (Folgueira et al., 2019). Daraus lässt sich folgern, dass nicht nur Noradrenalin, wie bisher bekannt, sondern vermutlich auch Dopamin Regelkreise von BAT beeinflussen kann. Weitere Untersuchungen sind jedoch notwendig um diese neue Hypothese in Bezug auf das humane BAT zu charakterisieren.

Das im Methodenteil beschriebene Kälteprotokoll hat bereits in unserer o.g. Vorstudie vorhandenes BAT erfolgreich aktiviert. Dies konnte mit Hilfe dreier exemplarischer <sup>18</sup>F-FDG-PET/CT Scans unter Kälteexposition nachgewiesen werden,

wobei gleichzeitig keine bedeutenden Mengen an  $^{18}\text{F}$ -Fluorodeoxyglucose in anderen metabolisch relevanten Geweben wie z.B. der Skelettmuskulatur aufgenommen wurden (Iwen et al., 2017). Weitere individualisierte Kälteprotokolle zeigen ebenfalls nuklearmedizinisch sowohl in normalgewichtigen also auch in Probanden mit Adipositas die erfolgreiche Aktivierung von BAT (Ouellet et al., 2012; Blondin et al., 2015; Chondronikola et al., 2016). Bei Menschen mit Adipositas höheren Grades ist die thermische Isolation aufgrund des vermehrten Körperfettanteils erhöht (Anderson, 1999). Aufgrund einer erhöhten thermischen Isolation in Menschen mit Adipositas Grad I – in unseren Daten betrug der Körperfettanteil durchschnittlich 26% - verringerten wir die Umgebungstemperatur auf  $16^{\circ}\text{C}$ , um in unserem Probandenkollektiv die größtmögliche Aktivierung von BAT durch Kälteexposition zu erzielen, ohne dabei Muskelzittern auszulösen, welches mittels EMG kontrolliert wurde.

Als Nachweismethode für morphologisch vorhandenes und aktives BAT wurde in dieser Arbeit als Alternative zum  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT die Temperaturveränderung der Haut während der Versuchssitzungen mittels iButtons<sup>®</sup> analysiert. Unter Anwendung dieser erheblich kostengünstigeren und ohne Strahlenbelastung einhergehenden, etablierten Methode konnten wir bei den Probanden mit Adipositas Grad I zwischen den beiden Bedingungen ( $25^{\circ}\text{C}$  vs.  $16^{\circ}\text{C}$ ) über charakteristischen BAT Depots einen geringeren Temperaturabfall verzeichnen als an anderen Lokalisationen des Körpers. Diese Befunde sind kongruent zu den Beobachtungen von *van der Lans et al.* (van der Lans et al., 2016). Im Bereich distaler iButton<sup>®</sup> Positionen wurde aufgrund der physiologischen Vasokonstriktion bei erniedrigter Umgebungstemperatur durch den Ganzkörperanzug ein deutlicher Abfall der peripheren Oberflächentemperatur erwartet, der sich in den Ergebnissen bestätigte. Allerdings wurde auch über den proximalen, zentralen iButton<sup>®</sup> Positionen ein prozentual stärkerer Abfall der dermalen Oberflächentemperatur verzeichnet, wenn man diesen explizit mit den Temperaturveränderungen über spezifischen BAT Depots verglich. Eine vermehrte Durchblutung durch die Kälte-bedingte Zentralisation erklärt den Temperaturunterschied zwischen BAT Depots und der distalen Oberflächentemperatur, aber nicht zwingend zwischen BAT Depots und der proximalen, zentralen Oberflächentemperatur, bei anatomisch ähnlicher Lokalisation. Auf indirekte Weise lässt sich so aktives BAT thermisch, durch stattfindende zitterfreier Thermogenese, mit Hilfe der iButtons<sup>®</sup> in dieser Arbeit nachweisen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von *Boon et al.* konnte jedoch keine Erhöhung der dermalen Oberflächentemperatur über BAT Depots

während der Kälteexposition gemessen werden (Boon et al., 2014). Grund dafür könnte eine verstärkte Isolierung durch subkutanes Gewebe bei dem hier vorliegenden Probandenkollektiv sein (Anderson, 1999) oder auch eine vergleichsweise herabgesetzte Aktivität von vorhandenem BAT bei Menschen mit Adipositas Grad I (Orava et al., 2013).

Zusammenfassend lassen die Ergebnisse dieser Arbeit eine aktive zitterfreie Thermogenese von BAT durch die Kälte-induzierte Aktivierung des SNS folgern und gelten als Grundlage für die Diskussion der weiteren Ergebnisse, wenn auch keine weiteren Aussagen über das konkrete Ausmaß der Menge und des Aktivitätsgrads von BAT in Form von Volumen, Glukoseaufnahme oder intrazellulärer Lipolyse wie bei o.g. nuklearmedizinischen Nachweismethoden gemacht werden können.

#### **4.2. Auswirkung der BAT Aktivierung auf die sekretorische $\beta$ -Zellkapazität sowie die periphere Insulinsensitivität**

In der aktuellen Arbeit waren die Insulinkonzentrationen im Blut nach der Adaptationsphase ( $t_{10}$ ) zwischen den Bedingungen (25 vs. 16 °C) gleich. Im Gegensatz dazu waren die Glukosekonzentrationen nach der Adaptation bereits unterschiedlich. Vorangegangene Studien haben mehrfach einen Zusammenhang der Kälte-induzierten Aktivierung von BAT mit einer erhöhten peripheren Aufnahme von Glukose durch eine verbesserter Insulinsensitivität in Mäusen und Menschen beschrieben (Stanford et al., 2013; Chondronikola et al., 2014; Lee et al., 2014; Hanssen et al., 2015; Chondronikola et al., 2016). Die Tatsache, dass auch in dieser Studie bereits die Nüchternglukose nach Beginn der Kälteexposition bei unveränderter Insulinkonzentration in der Bedingung 16°C signifikant erniedrigt war, stützt die o.g. Annahme dieses positiven Zusammenhangs ebenfalls in Probanden mit Adipositas Grad I. Dabei waren die Nüchternwerte der Blutglukose in beiden Bedingungen stets euglykäm. Aus klinischer Perspektive ist der absolute Unterschied in der Blutglukosekonzentration zum Zeitpunkt  $t_{10}$  zwischen den beiden Bedingungen im Versuchssetting eher als marginal einzuordnen, kann jedoch gerade bei prolongierter Kälteexposition oder chronischer Stimulation durch eine kontinuierlich leicht erniedrigte Umgebungstemperatur erhebliche klinische Relevanz durch z.B. eine anhaltende Beeinflussung der REE erlangen (Yoneshiro et al., 2013; Blondin et al., 2014).

Im ersten Teil des Botnia Clamps, dem ivGTT, zeigte sich in der Bedingung 16°C im Vergleich zur Bedingung 25°C sowohl ein geringerer Anstieg der Blutglukose ( $AUC_{10min}$  Glukose), als auch eine schnellere Normalisierung der Blutglukosekonzentration nach dem

gewichtsadaptierten Glukosebolus. Nur in der Bedingung 16°C waren die Blutzuckerwerte 60 Minuten nach dem Bolus vergleichbar mit den Werten vor dem ivGTT, während sie in der Bedingung 25°C noch erhöht waren. Unabhängig von der Insulinkonzentration betrachtet, könnte die verzögerte Normalisierung der Blutglukose während der Temperaturverhältnisse bei 25°C ein erstes Anzeichen für eine gestörte Glukosetoleranz und eine beginnende prädiabetische Stoffwechsellage bei denen zuvor als metabolisch gesund eingestuften Probanden darstellen. Das Mittel der Wahl zur Bestätigung dieser Annahme wäre ein oraler Glukosetolerantest (OGTT), bei welchem auch die Auswirkungen der gastrointestinal ausgeschütteten Inkretine zur Senkung der Blutglukose berücksichtigt werden (Jagannathan et al., 2020).

Wenn man simultan die Insulinkonzentrationen während des ivGTTs auswertet, dann fällt auf, dass die Sekretion von Insulin in der Bedingung 16°C ausgeprägter war. Dies erklärt im Zusammenspiel den niedrigeren Anstieg der Blutglukose, sowie die frühere Normalisierung der Blutglukose während des ivGTTs in der Bedingung 16°C, bei für Insulin sensiblen Probanden. Interessanterweise wurde in der bisherigen Literatur ausschließlich von einer verbesserten peripheren Insulinsensitivität durch die Kälte-induzierte Aktivierung von BAT berichtet, ohne diese in Verbindung mit der Sekretionsleistung der pankreatischen  $\beta$ -Zellen zu analysieren (Chondronikola et al., 2014; Hanssen et al., 2015). Die zeitgleiche Beurteilung der bestehenden  $\beta$ -Zellkapazität in Kombination mit der peripheren Insulinsensitivität ist jedoch pathophysiologisch für die Einschätzung, ob möglicherweise zukünftig ein DMT2 entstehen kann, entscheidend (Kahn et al., 1993; Tripathy et al., 2003). In dieser Arbeit sehen wir erstmals *in vivo*, dass es durch die prolongierte, Kälte-induzierte Aktivierung von BAT nach dem gewichtsadaptierten Glukosestimulus zu einer verstärkten akuten Insulinsekretion durch die  $\beta$ -Zellen gekommen ist. Die FPIR ist ein gutes Maß für die  $\beta$ -Zell-Kapazität (Kahn, 2001) und war bei den Probanden mit Adipositas Grad I in der Bedingung 16°C signifikant größer ausgeprägt als in der Bedingung 25°C. Dies wurde ebenso durch einen erhöhten HOMA- $\beta$  Index in der Bedingung 16°C verifiziert. Da Insulin für eine gesteigerte Aufnahme von sowohl Glukose als auch von TGs und FFAs aus zirkulierenden TRLs in BAT essentiell ist (Orava et al., 2011; Heine et al., 2018), fördert die verstärkte  $\beta$ -Zell-Sekretion vermutlich das rasche Auffüllen der Energiespeicher des metabolisch aktiven BATs und kompensiert so eine transiente Hyperglykämie zügiger.

Da dieser „ $\beta$ -Zell-Effekt“ in unserer Vorstudie in schlanken Probanden bei ähnlichen Versuchsbedingungen nicht gezeigt werden konnte, ist eine Art *ceiling effect* (Deckeneffekt) diskutierbar. Im Einzelnen bedeutet es, dass in unseren Probanden mit Adipositas Grad I

womöglich eine bisher nicht messbare, aber dennoch beginnende gestörte Glukosetoleranz und Insulinresistenz besteht, die durch die Aktivierung von BAT verbessert werden kann, während in den schlanken Probanden keine Verbesserung der ohnehin gut funktionierenden  $\beta$ -Zellfunktion möglich ist.

Wie genau es zu einer Steigerung der  $\beta$ -Zell-Kapazität durch die Kälte-induzierte Aktivierung von BAT kommt ist anhand der Daten dieser Studie nicht abschließend zu erklären. Ein möglicher Erklärungsansatz ist dennoch, dass nach prolongierter Kälte vermehrt NEFAs als Energiesubstrate für BAT durch Lipolyse in WAT mobilisiert wurden (Ouellet et al., 2012) und zu einer universell erhöhten Empfindlichkeit der  $\beta$ -Zellen führen könnten. Möglicherweise findet eine verstärkte Lipolyse in Probanden mit Adipositas Grad I bei generell erhöhter Fettmasse statt. Entgegen der Theorie der Lipotoxizität, bei der erhöhte NEFA Spiegel auf Dauer eine Destruktion der  $\beta$ -Zellen sowie der hepatischen Zellen zur Folge haben (Rada et al., 2020), könnten sie hier vermutlich eher regulatorisch wirken um ihre eigene Insulin-abhängige Aufnahme in aktuell aktiviertes BAT als NEFAs oder TGs zu fördern (Blondin et al., 2015; Heine et al., 2018). Alternativ könnten auch endokrine Signale von BAT, sogenannte Batokines, ihren individuellen Einfluss auf die  $\beta$ -Zell Leistung in Abhängigkeit von der BAT Aktivität haben (Lahesmaa et al., 2019; Scheele and Wolfrum, 2020). Auch eine allein Katecholamin-vermittelte Steigerung der FPIR ist bei transienter Hyperglykämie nicht auszuschließen. In diesem Fall wäre Kälte als „Stressor“ zu werten. Allerdings würde man bei akutem Stress bei normalgewichtigen Probanden und Probanden mit Adipositas Grad I ähnliche Ergebnisse im Sinne einer generellen „*Fight and Flight*“ Regulation erwarten.

Der zweite Teil des Botnia Clamps, der HEC, beruht auf der Annahme, dass durch die exogen erzeugte Hyperinsulinämie die endogene Glukoseproduktion der Leber unterdrückt wird; es stellt sich ein euglykämischer Steady-State bei individuellem Glukoseverbrauch ein (DeFronzo et al., 1979; Tripathy et al., 2003). Dieser wurde auch in den o.g. Ergebnissen, wie zu erwarten, erreicht. Die periphere Insulinsensitivität (M-Value) war jedoch zwischen den beiden Bedingungen vergleichbar. Die Aktivierung von BAT hatte keinen Einfluss auf die kumulative Menge der infundierten Glukose. Wenn auch der absolute Verbrauch der Glukose in der Bedingung 16°C um etwa 2000 mg höher lag, war dieser statistisch nicht signifikant. Entgegen der Ergebnisse von *Chondronikola et al.* sowie *Iwen et al.* und der zuvor postulierten Hypothese verbesserte die Kälte-induzierte Aktivierung von BAT die periphere Insulinsensitivität gemessen am Glukoseverbrauch in den Probanden mit Adipositas Grad I nicht (Chondronikola et al., 2014; Iwen et al., 2017).

Grund dafür könnte, wie von *Blondin et al.* bei Probanden mit DMT2 beschrieben, eine selektive Beeinträchtigung der Glukoseaufnahme in BAT in Probanden mit Adipositas sein, bei aber intaktem und gegebenenfalls favorisiertem Lipid-(FFA-) Metabolismus. Zudem stellten die Autoren fest, dass die oxidative Kapazität von aktiviertem BAT in dem diabetogenen Probandenkollektiv nicht verändert war, was die oben genannte Hypothese unterstützen würde (*Blondin et al.*, 2015).

Darüber hinaus kam es während des Steady-States des HECs trotz der erzeugten Hyperinsulinämie in beiden Bedingungen zu keinem gleichbleibenden Insulinplateau. Vor allem in der Bedingung 16°C kam es zu einer deutlich erhöhten Insulinausschüttung im zeitlichen Verlauf im Gegensatz zu der Bedingung 25°C. In Mäusen wurde kürzlich durch *Heine et al.* festgestellt, dass eine ausgeprägte systemische Insulinantwort für die anhaltende Aufstockung der Energieträger in aktivem BAT wesentlich ist. Jene systemische Insulinantwort wird möglicherweise auch in Menschen durch eine Kälte-induzierte ATGL-abhängige Lipolyse in WAT begünstigt, unabhängig von der exogenen Hyperinsulinämie, und würde die erhöhten Insulinwerte bei prolongierter Kältestimulation im HEC erklären (*Heine et al.*, 2018). Interessanterweise wird die ATGL-abhängige Lipolyse in WAT ebenfalls vor allem noradrenerg stimuliert, wie BAT selbst auch (*Bartness et al.*, 2010). Zudem zeigen ATGL-knock-out Mäuse eine extreme Beeinträchtigung in der Thermoregulation (*Haemmerle et al.*, 2006). Die nüchternen Probanden betreiben quasi Thermogenese in einer katabolen Stoffwechsellage, benötigen jedoch das anabole Hormon Insulin z. B. zur Stimulation der LPL, sodass zirkulierende TRLs aktivem BAT zur Verfügung gestellt werden können (*Heine et al.*, 2018). Somit könnten die wissenschaftlich bekannten, negativen Konsequenzen einer Katecholamin-getriggerten Lipolyse in WAT durch aktives, NST betreibendes BAT möglicherweise normalisiert werden (*Mullins et al.*, 2014). Diese These bedarf dringend weiterer Untersuchungen, da sie auch klinisch äußerst relevanten Einfluss auf das Verständnis der Pathomechanismen des DMT2 haben könnte.

Es ist pathophysiologisch bekannt, dass bei Menschen mit beginnender Insulinresistenz durch eine gesteigerte Sekretionsleistung des Inselorgans eine erhöhte basale Glukosekonzentration initial kompensiert werden kann (*Herold*, 2017). Die Entwicklung eines manifesten DMT2 kann so herausgezögert werden. Zur Risikoabschätzung für die Entwicklung eines DMT2 werden wie oben erklärt  $\beta$ -Zellkapazität und periphere Insulinsensitivität gemeinsam analysiert. Im Rahmen des Botnia Clamps ist der DI, wie der Name indirekt vorgibt, ein Surrogatparameter für das Eintreten dieses Krankheitsbildes, denn bei herabgesetzter  $\beta$ -Zell-Leistung verringert sich auch der DI

und das mittelfristige Risiko um an einem DMT2 zu erkranken ist erhöht (Lyssenko et al., 2008). Trotz der gesteigerten FPIR in der Bedingung 16°C hatte diese keine Auswirkung auf den DI der Probanden mit Adipositas Grad I in den hier abgebildeten Ergebnissen. Grund dafür könnte einerseits die relativ kurzfristige Kälteexposition vor dem ivGTT sein und somit nur beginnende Beeinflussung der FPIR, andererseits wird die periphere Insulinsensitivität im Clampversuch nur am Glukoseverbrauch und nicht mit Hilfe des gegebenenfalls favorisierten Lipidmetabolismus in Probanden mit Adipositas gemessen, sodass eine mögliche Verbesserung der peripheren Insulinsensitivität nicht vollständig erfasst werden könnte (Blondin et al., 2015; Chondronikola et al., 2016; Carpentier et al., 2018).

Darüber hinaus zeigte sich zwischen den Bedingungen 16°C und 25°C ein signifikanter Unterschied im  $S_I$ -Index, welcher die periphere Insulinsensitivität (M-Value) auf die ausgeschüttete Insulinkonzentration im HEC bezieht. Der  $S_I$ -Index war während der BAT Aktivierung erniedrigt, was bedeutet, dass bei erhöhter Insulinmenge im Blut die gleiche Menge an Glukose verstoffwechselt wurde (Gastaldelli, 2022). Dies könnte Ausdruck einer verminderten Insulin Clearance sein oder eine vermehrte endogene Insulinproduktion bedeuten.

Insgesamt erscheint aktiviertes BAT in Probanden mit Adipositas Grad I, entgegen der oben genannten Hypothese und der Ergebnisse zu schlanken Probanden, regulatorische Auswirkungen auf die  $\beta$ -Zell-Kapazität bei unveränderter peripherer Insulinsensitivität im Glukosemetabolismus zu haben. Zusätzlich spielt das anabole Hormon Insulin in der BAT aktiven Bedingung vermutlich wie in der aktuellen Literatur (s.o.) bereits in Ansätzen beschrieben eine wesentliche Rolle als Mediator zwischen WAT und BAT im aktiven BAT Zustand.

#### **4.3. Auswirkung der BAT Aktivierung auf den Lipidstoffwechsel**

Parameter des Lipidstoffwechsels wurden durch die Aktivierung von BAT mittels kurzfristiger Kälte teilweise beeinflusst.

Es ist bewiesen, dass BAT initial intrazelluläre TGs abbaut um NST zu betreiben und um UCP-1 hoch zu regulieren (Labbé et al., 2015; Blondin et al., 2017a). Gleichzeitig beeinflussen mobilisierte extrazelluläre Fettsäuren die Insulinsensitivität der Organe. Die Aufnahme von Energieträgern wie Glukose oder NEFAs in aktiviertes BAT bei akuter Kälte ist essentiell, entweder direkt für NST oder auch zur intrazellulären Lipogenese. Lipide

können dabei entweder in Form von an Albumin gebundenen NEFAs oder auch als TRLs aufgenommen werden wie in Mäusen und Menschen nachgewiesen wurde (Bartelt et al., 2011; Blondin et al., 2017a, 2017b).

TGs stiegen in dieser Studie nach Kälte Adaptation bei 16°C durch BAT Aktivierung im Blut initial an, während sie in der Bedingung 25°C herab sanken. Diese Entwicklung konnte auch in der Vorstudie mit schlanken Probanden erstmals beobachtet werden (Iwen et al., 2017), während im Gegensatz dazu in Tierversuchen ein Absinken der TG Konzentration mit kompletter Remission einer vorherigen Hyperlipidämie unter BAT Aktivierung gezeigt werden konnte (Bartelt et al., 2011; Berbée et al., 2015). Für den Anstieg der TGs kann eine durch Noradrenalin abhängige Lipolyse des WAT verantwortlich sein, welche im Zusammenspiel mit Insulin im Hungerzustand zwar zu einer Aufnahme von neu verfügbaren TGs in BAT führt, aber ebenso eine vermehrte VLDL Produktion durch NEFAs in der Leber zur Folge hat (Heine et al., 2018). Ein Anstieg der TG Konzentration steht einerseits im Einklang mit der aktuellen Literatur, jedoch bei ebenfalls erhöhten Cholesterin und HDL Werten, welche in den hiesigen Untersuchungen nicht festgestellt werden konnten (Hoeke et al., 2017). Darüber hinaus zeigte sich bei *Chondronikola et al.* keine Veränderung der TG Konzentrationen nach ähnlich langer Kältestimulation bei vergleichbarem Probandenkollektiv (Chondronikola et al., 2016).

Interessanterweise stellten *Chondronikola et al.* einen Abfall der TGs im Blut einen Tag nach Durchführung der Versuche fest. In dieser Studie fielen die TGs im weiteren Versuchsverlauf in beiden Bedingungen im Vergleich zum Nüchternwert ebenfalls herab, wobei jedoch der initiale Anstieg der TGs während der BAT Aktivierung bis zum Steady-State des Botnia Clamps zwischen den beiden Bedingungen signifikant erhalten blieb. Möglicherweise könnte eine Kälte-induzierte BAT Aktivierung durch eine verspätete oder auch langanhaltende Veränderung des Lipidmetabolismus bei Probanden mit Adipositas Grad I eine Rolle spielen (Chondronikola et al., 2016).

#### **4.4. Methodische Einschränkungen**

Die Limitation dieser Arbeit sollen nachfolgend aufgezeigt werden. Zuerst einmal wurde die Studie nur an männlichen Probanden mit Adipositas Grad I durchgeführt und gibt keine Auskunft über geschlechterspezifische Veränderungen des Metabolismus durch eine BAT Aktivierung. Dabei zeigten zwei Studien von 2009 eine vermehrte Aktivität und größeres Volumen von BAT in schlanken Frauen (Cypess et al., 2009; Saito et al., 2009).

Darüber hinaus wurde keine explizite Einteilung der teilnehmenden Probanden in BAT + und BAT – Subgruppen durchgeführt wie bei Studien die anhand nuklearmedizinischer Bildgebung sowohl das BAT Volumen, als auch dessen metabolische Aktivität mittels unterschiedlicher Traceraufnahme quantifiziert haben (Chondronikola et al., 2014).

Die Ergebnisse dieser Studie wurden sowohl im Kontext humaner als auch tierexperimenteller Studien betrachtet, obwohl in der tierexperimentellen Studie von z.B. *Bartelt et al.* vornehmlich deutlich reduzierte Temperaturen zur Aktivierung von BAT und längere Kälteprotokolle eingesetzt wurden (Bartelt et al., 2011). Zudem ist seit kürzlich bekannt, dass die Aktivierung von BAT in menschlichen und mausartigen Zellen wahrscheinlich über unterschiedliche Rezeptoren ( $\beta$ 2-AR vs.  $\beta$ 3-AR) erfolgt (Blondin et al., 2020), sodass gleiche als auch unterschiedliche Auswirkungen von aktivem BAT in Mäusen und Menschen gegebenenfalls neu eingeordnet werden müssen.

Milde, akute Kälteexposition und chronische Kälteexposition haben zudem unterschiedliche Effekte auf die Aktivierung von BAT und sein metabolisches Potenzial (van der Lans et al., 2013; Yoneshiro et al., 2013), sodass ein verlängertes Kälteprotokoll in Probanden mit Adipositas Grad I zukünftig angewendet werden sollte um metabolische Konsequenzen einer veränderten FPIR umfassender zu bewerten.

Zuletzt ist ein reiner Effekt durch den Stressor Kälte und die Ausschüttung von Noradrenalin via SNS nicht auszuschließen (Morton et al., 2017), jedoch, aufgrund des thermischen Nachweises von aktivem BAT in anatomisch typischen Lokalisation in den Probanden dieser Studie, zu vernachlässigen.

#### **4.5. Ausblick**

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass aktives BAT in jungen, gesunden Menschen mit Adipositas Grad I vorhanden ist und dass eine BAT Aktivierung mit einer gesteigerten  $\beta$ -Zellkapazität bei gleich bleibender peripherer Insulinsensitivität einhergeht. Weil gerade die  $\beta$ -Zellkapazität im Hinblick auf die Entwicklung von Erkrankungen wie DMT2 und Insulinresistenz pathologisch herabgesetzt ist und bei schlanken Probanden durch aktives BAT nicht beeinflusst wird, werfen diese Ergebnisse aus medizinischer Perspektive ein besonderes Augenmerk auf das hier ausgewählte Probandenkollektiv im Hinblick auf die Charakterisierung von BAT typischen Auswirkungen in zukünftigen Studien.

Spezifische Marker für aktives BAT, WAT und die  $\beta$ -Zellen des Pankreas in einer katabolen Stoffwechselsituation sollten in humanen Studien zukünftig gemeinsam betrachtet werden um vor allem die Rolle von Insulin während der BAT Aktivierung genauer zu untersuchen. Dabei sollten vermehrt Parameter (NEFAs/FFAs/TGs) und Enzyme (ATGL/LPL) des Lipidmetabolismus gerade bei Probanden mit Adipositas im Vordergrund stehen.

Schlussendlich ist auch die Forschung an weiteren Methoden und Markern zur expliziten Identifikation von metabolisch aktivem BAT sowie beigem Fettgewebe weiterhin vorrangig, um das vollständige Potenzial eines Energiesubstrat „verbrennenden“ Organs richtig einschätzen und dann zukünftig für die klinische Behandlung von Patienten voll ausschöpfen zu können.

## 5. Zusammenfassung

Die weltweite Zunahme von Adipositas sowie die damit verbundenen Gesundheitsprobleme fordern neue Behandlungsstrategien. Humanes BAT, „verbrennt“ durch Kälte aktiviert Energiesubstrate in Form von Wärme und trägt positiv zur Energiebilanz des Menschen bei. Eine steigende Anzahl an Studien versucht die metabolischen Einflüsse näher zu charakterisieren, um BAT als mögliches Target im Kampf gegen Adipositas zu nutzen. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss einer Kälte-induzierten Aktivierung von BAT auf den Glukose- und Lipidstoffwechsel in männlichen Probanden mit Adipositas Grad I vor den Hypothesen untersucht, dass u.a. aktiviertes BAT mittels NST zu einer Verbesserung der peripheren Insulinsensitivität bei unveränderter  $\beta$ -Zell Kapazität und zu einer Veränderung von Parametern des Lipidstoffwechsels führt.

Bei 14 metabolisch gesunden Männern mit Adipositas Grad I wurde ein Botnia Clamp in Form eines ivGTTs mit nachfolgendem HEC durchgeführt. Ein Versuchstag fand unter thermoneutralen Bedingungen bei 25°C und der andere Versuchstag fand unter moderater Kälte bei 16°C in einem Kälteanzug statt.

Eine BAT Aktivierung konnte durch NST mittels Temperaturfühlern (iButtons®) bei vermindertem Abfall der Oberflächentemperatur der Haut festgestellt werden. Erhöhte Noradrenalin und Dopamin Level in der Bedingung 16°C bestätigten eine Aktivierung von BAT über das gesteigerte SNS. Wider Erwarten konnte jedoch bei den Probanden mit Adipositas Grad I eine erhöhte sekretorische Leistung der  $\beta$ -Zellen in der Bedingung 16°C im Rahmen des Clamp Versuchs bei unveränderter peripherer Insulinsensitivität festgestellt werden. Zudem wurde eine gesteigerte Konzentration von TGs im Blut nachgewiesen, neben sonst unveränderten Parametern des Lipidstoffwechsels.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Aktivierung von BAT über das SNS bei Menschen mit Adipositas Grad I die  $\beta$ -Zellkapazität beeinflusst und eine transiente Hyperglykämie schneller kompensiert, wobei die periphere Insulinsensitivität unverändert bleibt. Darüber hinaus erscheint der Lipidmetabolismus mit einer vermehrten Bereitstellung von Energieträgern wie TGs eine entscheidende Bedeutung im Rahmen der metabolischen Aktivität von BAT zu haben. Die o.g. Ergebnisse bei Männern mit Adipositas Grad I heben BATs metabolisches Potenzial und die Relevanz als Angriffsort in Bezug auf Erkrankungen wie Adipositas, DMT2 oder das metabolische Syndrom hervor.

## 6. Literaturverzeichnis

- Aherne, W., Hull, D., 1966. Brown adipose tissue and heat production in the newborn infant. *J. Pathol. Bacteriol.* 91, 223–234.
- Anderson, G., 1999. Human morphology and temperature regulation. *Int. J. Biometeorol.* 43, 99–109.
- Backhaus, J., 2018. Metabolic relevance of cold-activated brown adipose tissue in healthy normal weight and obese men (Doctoral Dissertation). Universität zu Lübeck.
- Bahler, L., Verberne, H.J., Admiraal, W.M., Stok, W.J., Soeters, M.R., Hoekstra, J.B., Holleman, F., 2016. Differences in Sympathetic Nervous Stimulation of Brown Adipose Tissue Between the Young and Old, and the Lean and Obese. *J. Nucl. Med.* 57, 372–377.
- Bamshad, M., Song, C.K., Bartness, T.J., 1999. CNS origins of the sympathetic nervous system outflow to brown adipose tissue. *Am. J. Physiol.-Regul. Integr. Comp. Physiol.* 276, R1569–R1578.
- Bartelt, A., Bruns, O.T., Reimer, R., Hohenberg, H., Ittrich, H., Peldschus, K., Kaul, M.G., Tromsdorf, U.I., Weller, H., Waurisch, C., Eychmüller, A., Gordts, P.L.S.M., Rinninger, F., Bruegelmann, K., Freund, B., Nielsen, P., Merkel, M., Heeren, J., 2011. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat. Med.* 17, 200–205.
- Bartness, T.J., Shrestha, J.B., Vaughan, C.H., Schwartz, G.J., Song, C.K., 2010. Sensory and sympathetic nervous system control of white adipose tissue lipolysis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 318, 34–43.
- Benzinger, T.H., 1969. Heat regulation: homeostasis of central temperature in man. *Physiol. Rev.* 49, 671–759.
- Berbée, J.F.P., Boon, M.R., Khedoe, P.P.S.J., Bartelt, A., Schlein, C., Worthmann, A., Kooijman, S., Hoeke, G., Mol, I.M., John, C., Jung, C., Vazirpanah, N., Brouwers, L.P.J., Gordts, P.L.S.M., Esko, J.D., Hiemstra, P.S., Havekes, L.M., Scheja, L., Heeren, J., Rensen, P.C.N., 2015. Brown fat activation reduces hypercholesterolaemia and protects from atherosclerosis development. *Nat. Commun.* 6, 6356.
- Blondin, D.P., Frisch, F., Phoenix, S., Guérin, B., Turcotte, É.E., Haman, F., Richard, D., Carpentier, A.C., 2017a. Inhibition of Intracellular Triglyceride Lipolysis Suppresses Cold-Induced Brown Adipose Tissue Metabolism and Increases Shivering in Humans. *Cell Metab.* 25, 438–447.

- Blondin, D.P., Labbé, S.M., Noll, C., Kunach, M., Phoenix, S., Guérin, B., Turcotte, É.E., Haman, F., Richard, D., Carpentier, A.C., 2015. Selective Impairment of Glucose but Not Fatty Acid or Oxidative Metabolism in Brown Adipose Tissue of Subjects With Type 2 Diabetes. *Diabetes* 64, 2388–2397.
- Blondin, D.P., Labbé, S.M., Tingelstad, H.C., Noll, C., Kunach, M., Phoenix, S., Guérin, B., Turcotte, É.E., Carpentier, A.C., Richard, D., Haman, F., 2014. Increased Brown Adipose Tissue Oxidative Capacity in Cold-Acclimated Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 99, E438–E446.
- Blondin, D.P., Nielsen, S., Kuipers, E.N., Severinsen, M.C., Jensen, V.H., Miard, S., Jespersen, N.Z., Kooijman, S., Boon, M.R., Fortin, M., Phoenix, S., Frisch, F., Guérin, B., Turcotte, É.E., Haman, F., Richard, D., Picard, F., Rensen, P.C.N., Scheele, C., Carpentier, A.C., 2020. Human Brown Adipocyte Thermogenesis Is Driven by  $\beta$ 2-AR Stimulation. *Cell Metab.* 32, 287–300.
- Blondin, D.P., Tingelstad, H.C., Noll, C., Frisch, F., Phoenix, S., Guérin, B., Turcotte, É.E., Richard, D., Haman, F., Carpentier, A.C., 2017b. Dietary fatty acid metabolism of brown adipose tissue in cold-acclimated men. *Nat. Commun.* 8, 14146.
- Blouquit, M.F., Gripois, D., Roffi, J., 1996. Influence of Cold Exposure on Dopamine Content in Rat Brown Adipose Tissue. *Horm. Metab. Res.* 28, 122–127.
- Boon, M.R., Bakker, L.E.H., van der Linden, R.A.D., Pereira Arias-Bouda, L., Smit, F., Verberne, H.J., van Marken Lichtenbelt, W.D., Jazet, I.M., Rensen, P.C.N., 2014. Supraclavicular Skin Temperature as a Measure of  $^{18}\text{F}$ -FDG Uptake by BAT in Human Subjects. *PLoS ONE* 9, e98822.
- Borai, A., Livingstone, C., Ferns, G.A.A., 2007. The biochemical assessment of insulin resistance. *Ann. Clin. Biochem. Int. J. Lab. Med.* 44, 324–342.
- Bray, G.A., Kim, K.K., Wilding, J.P.H., on behalf of the World Obesity Federation, 2017. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation: Position Paper. *Obes. Rev.* 18, 715–723.
- Cannon, B., Nedergaard, J., 2004. Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance. *Physiol. Rev.* 84, 277–359.
- Carpentier, A.C., Blondin, D.P., Virtanen, K.A., Richard, D., Haman, F., Turcotte, É.E., 2018. Brown Adipose Tissue Energy Metabolism in Humans. *Front. Endocrinol.* 9, 447.

- Chondronikola, M., Beeman, S.C., Wahl, R.L., 2018. Non-invasive methods for the assessment of brown adipose tissue in humans: BAT assessment methods. *J. Physiol.* 596, 363–378.
- Chondronikola, M., Volpi, E., Børsheim, E., Porter, C., Annamalai, P., Enerbäck, S., Lidell, M.E., Saraf, M.K., Labbe, S.M., Hurren, N.M., Yfanti, C., Chao, T., Andersen, C.R., Cesani, F., Hawkins, H., Sidossis, L.S., 2014. Brown Adipose Tissue Improves Whole-Body Glucose Homeostasis and Insulin Sensitivity in Humans. *Diabetes* 63, 4089–4099.
- Chondronikola, M., Volpi, E., Børsheim, E., Porter, C., Saraf, M.K., Annamalai, P., Yfanti, C., Chao, T., Wong, D., Shinoda, K., Labbè, S.M., Hurren, N.M., Cesani, F., Kajimura, S., Sidossis, L.S., 2016. Brown Adipose Tissue Activation Is Linked to Distinct Systemic Effects on Lipid Metabolism in Humans. *Cell Metab.* 23, 1200–1206.
- Cousin, B., Cinti, S., Morroni, M., Raimbault, S., Ricquier, D., Pénicaud, L., Casteilla, L., 1992. Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *Journal of cell science*, 103, 931-942.
- Cypess, A.M., Lehman, S., Williams, G., Tal, I., Rodman, D., Goldfine, A.B., Kuo, F.C., Palmer, E.L., Tseng, Y.H., Doria, A. and Kolodny, G.M., 2009. Identification and Importance of Brown Adipose Tissue in Adult Humans. *N. Engl. J. Med.* 360, 1509-1517.
- DAG e.V., 2022. Definition von Übergewicht und Adipositas. URL: <https://adipositas-gesellschaft.de/ueber-adipositas/definition-von-adipositas/> (Tag des Zugriffs: 01.11.2022).
- Data Input GmbH, 2019. Nutriguard-MS. Gebrauchsanweisung Version 2.0. Data Input GmbH, Hindenburgstraß 2a 82343 Pöcking.
- Data Input GmbH, 2005. Das BIA-Kompendium, 3. Ausgabe. Data Input GmbH, Landwehrstr. 54 64293 Darmstadt. URL: [https://data-input.de/media/pdf-deutsch/Kompendium\\_III\\_Ausgabe\\_2009.pdf](https://data-input.de/media/pdf-deutsch/Kompendium_III_Ausgabe_2009.pdf) (Tag des Zugriffs: 30.01.2024).
- DeFronzo, R.A., Tobin, J.D., Andres, R., 1979. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* 237, E214.
- Enerbäck, S., 2010. Human Brown Adipose Tissue. *Cell Metab.* 11, 248–252.
- Fenzl, A., Kiefer, F.W., 2013. Braunes Fettgewebe: Die neue Waffe gegen Adipositas? *J. Für Klin. Endokrinol. Stoffwechs.-Austrian J. Clin. Endocrinol. Metab.* 7, 13–18.

- Folgueira, C., Beiroa, D., Porteiro, B., Duquenne, M., Puighermanal, E., Fondevila, M.F., Barja-Fernández, S., Gallego, R., Hernández-Bautista, R., Castelao, C., Senra, A., Seoane-Collazo, P., Gómez-Lado, N., Aguiar, P., Guallar, D., Fidalgo, M., Romero-Pico, A., Adan, R., Blouet, C., Labandeira-García, J.L., Jeanrenaud, F., Kallo, I., Liposits, Z., Salvador, J., Prevot, V., Dieguez, C., López, M., Valjent, E., Frühbeck, G., Seoane, L.M., Nogueiras, R., 2019. Hypothalamic dopamine signalling regulates brown fat thermogenesis. *Nat. Metab.* 1, 811–829.
- Frankenfield, D.C., Rowe, W.A., Cooney, R.N., Smith, J.S., Becker, D., 2001. Limits of body mass index to detect obesity and predict body composition. *Nutrition* 17, 26–30.
- Garrow, J.S., Webster, J., 1985. Quetelet's index (W/H<sup>2</sup>) as a measure of fatness. *Int. J. Obes.* 9, 147–153.
- Gastaldelli, A., 2022. Measuring and estimating insulin resistance in clinical and research settings. *Obesity* 30, 1549–1563.
- GBD 2015 Obesity Collaborators, 2017. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. *N. Engl. J. Med.* 377, 13–27.
- Golozoubova, V., Hohtola, E., Matthias, A., Jacobsson, A., Cannon, B., Nedergaard, J., 2001. Only UCP1 can mediate adaptive nonshivering thermogenesis in the cold. *FASEB J.* 15, 2048–2050.
- Haemmerle, G., Lass, A., Zimmermann, R., Gorkiewicz, G., Meyer, C., Rozman, J., Heldmaier, G., Maier, R., Theussl, H.-C., Eder, S., Kratky, D., Wagner, E., Klingenspor, M., Hoefler, G., Zechner, R., 2006. Defective Lipolysis and Altered Energy Metabolism in Mice Lacking Adipose Triglyceride Lipase. *Science* 312, 734–7.
- Haffner, S.M., Gonzalez, C., Miettinen, H., Kennedy, E., Stern, M.P., 1996. A Prospective Analysis of the HOMA Model: The Mexico City Diabetes Study. *Diabetes Care* 19, 1138–1141.
- Hanefeld, M., Leonhardt, W., 1981. Das Metabolische Syndrom. *Dtsch Gesundh Wesen* 545–552.
- Hanssen, M.J.W., Hoeks, J., Brans, B., van der Lans, A.A.J.J., Schaart, G., van den Driessche, J.J., Jörgensen, J.A., Boekschoten, M.V., Hesselink, M.K.C., Havekes, B., Kersten, S., Mottaghy, F.M., van Marken Lichtenbelt, W.D., Schrauwen, P., 2015. Short-term cold acclimation improves insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes mellitus. *Nat. Med.* 21, 863–865.

- Hany, T.F., Gharehpapagh, E., Kamel, E.M., Buck, A., Himms-Hagen, J., von Schulthess, G.K., 2002. Brown adipose tissue: a factor to consider in symmetrical tracer uptake in the neck and upper chest region. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 29, 1393–1398.
- Haugen, H.A., Chan, L.-N., Li, F., 2007. Indirect Calorimetry: A Practical Guide for Clinicians. *Nutr. Clin. Pract.* 22, 377–388.
- Heaton, J.M., 1972. The distribution of brown adipose tissue in the human. *Journal of anatomy*, 112, 35.
- Heine, M., Fischer, A.W., Schlein, C., Jung, C., Straub, L.G., Gottschling, K., Mangels, N., Yuan, Y., Nilsson, S.K., Liebscher, G., Chen, O., Schreiber, R., Zechner, R., Scheja, L., Heeren, J., 2018. Lipolysis Triggers a Systemic Insulin Response Essential for Efficient Energy Replenishment of Activated Brown Adipose Tissue in Mice. *Cell Metab.* 28, 644-655.
- Herold, G., 2017. Innere Medizin 2017: eine vorlesungsorientierte Darstellung; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung: mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. Eigenverl.: Kapitel Endokrinologie: Diabetes mellitus. Insulin. 718-721; 731-733, Köln.
- Hoeke, G., Nahon, K.J., Bakker, L.E.H., Norkauer, S.S.C., Dinnes, D.L.M., Kockx, M., Lichtenstein, L., Drettwan, D., Reifel-Miller, A., Coskun, T., Pagel, P., Romijn, F.P.H.T.M., Cobbaert, C.M., Jazet, I.M., Martinez, L.O., Kritharides, L., Berbée, J.F.P., Boon, M.R., Rensen, P.C.N., 2017. Short-term cooling increases serum triglycerides and small high-density lipoprotein levels in humans. *J. Clin. Lipidol.* 11, 920-928.e2.
- Houtkooper, L.B., Lohman, T.G., Going, S.B., Howell, W.H., 1996. Why bioelectrical impedance analysis should be used for estimating adiposity. *Am. J. Clin. Nutr.* 64, 436S-448S.
- Huttunen, P., Hirvonen, J., Kinnula, V., 1981. The occurrence of brown adipose tissue in outdoor workers. *Eur. J. Appl. Physiol.* 46, 339–345.
- Ishibashi, J., Seale, P., 2010. Beige can be slimming. *Science* 328, 1113–1114.
- Iwen, K.A., Backhaus, J., Cassens, M., Walzl, M., Hedesan, O.C., Merkel, M., Heeren, J., Sina, C., Rademacher, L., Windjäger, A., Haug, A.R., Kiefer, F.W., Lehnert, H., Schmid, S.M., 2017. Cold-Induced Brown Adipose Tissue Activity Alters Plasma Fatty Acids and Improves Glucose Metabolism in Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 102, 4226–4234.

- Iwen, K.A., Wenzel, E.T., Ott, V., Perwitz, N., Wellhöner, P., Lehnert, H., Dodt, C., Klein, J., 2011. Cold-induced alteration of adipokine profile in humans. *Metabolism* 60, 430–437.
- Jagannathan, R., Neves, J.S., Dorcely, B., Chung, S.T., Tamura, K., Rhee, M., Bergman, M., 2020. The Oral Glucose Tolerance Test: 100 Years Later. *Diabetes Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* 13, 3787–3805.
- Kahn, S.E., 2001. The Importance of  $\beta$ -Cell Failure in the Development and Progression of Type 2 Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 4047–4058.
- Kahn, S.E., Prigeon, R.L., Mcculloch, D.K., Boyko, E.J., Bergman, R.N., Schwartz, M.W., Neifing, J.L., Ward, W.K., Beard, J.C., Palmer, J.P., Jr, D.P., 1993. Quantification of the Relationship Between Insulin Sensitivity and  $\beta$ -Cell Function in Human Subjects: evidence for a hyperbolic function. *Diabetes*, 42, 1663-1672.
- Kaplan, N.M., 1989. The deadly quartet: upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Archives of internal medicine*, 149, 1514-1520.
- Katz, A., Nambi, S.S., Mather, K., Baron, A.D., Follmann, D.A., Sullivan, G., Quon, M.J., 2000. Quantitative Insulin Sensitivity Check Index: A Simple, Accurate Method for Assessing Insulin Sensitivity In Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85, 2402-2410.
- Klingenberg, M., Huang, S.-G., 1999. Structure and function of the uncoupling protein from brown adipose tissue. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Biomembr.* 1415, 271–296.
- Kohlie, R., Perwitz, N., Resch, J., Schmid, S.M., Lehnert, H., Klein, J., Iwen, K.A., 2017. Dopamine directly increases mitochondrial mass and thermogenesis in brown adipocytes. *J. Mol. Endocrinol.* 58, 57–66.
- Kyle, U.G., Bosaeus, I., Lorenzo, A.D.D., Deurenberg, P., Elia, M., Gómez, J.M., Heitmann, B.L., Kent-Smith, L., Melchior, J.-C., Pirlich, M., Scharfetter, H., Schols, A.M.W.J., Pichard, C., 2004. Bioelectrical impedance analysis—part I: review of principles and methods. *Clin. Nutr.* 23, 1226–1243.
- Labbé, S.M., Caron, A., Bakan, I., Laplante, M., Carpentier, A.C., Lecomte, R., Richard, D., 2015. In vivo measurement of energy substrate contribution to cold-induced brown adipose tissue thermogenesis. *FASEB J.* 29, 2046–2058.
- Lahesmaa, M., Oikonen, V., Helin, S., Luoto, P., U Din, M., Pfeifer, A., Nuutila, P., Virtanen, K.A., 2019. Regulation of human brown adipose tissue by adenosine and A2A receptors – studies with [15O]H<sub>2</sub>O and [11C]TMSX PET/CT. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 46, 743–750.

- Lean, M.E., James, W.P., Jennings, G., Trayhurn, P., 1986. Brown adipose tissue in patients with pheochromocytoma. *Int. J. Obes.* 10, 219–227.
- Lean, M.E.J., 1989. Brown adipose tissue in humans. *Proc. Nutr. Soc.* 48, 243–257.
- Lee, P., Ho, K.K.Y., Lee, P., Greenfield, J.R., Ho, K.K.Y., Greenfield, J.R., 2011. Hot fat in a cool man: infrared thermography and brown adipose tissue. *Diabetes Obes. Metab.* 13, 92–93.
- Lee, P., Smith, S., Linderman, J., Courville, A.B., Brychta, R.J., Dieckmann, W., Werner, C.D., Chen, K.Y., Celi, F.S., 2014. Temperature-Acclimated Brown Adipose Tissue Modulates Insulin Sensitivity in Humans. *Diabetes* 63, 3686–3698.
- Leitner, B.P., Huang, S., Brychta, R.J., Duckworth, C.J., Baskin, A.S., McGehee, S., Tal, I., Dieckmann, W., Gupta, G., Kolodny, G.M., Pacak, K., Herscovitch, P., Cypess, A.M., Chen, K.Y., 2017. Mapping of human brown adipose tissue in lean and obese young men. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, 8649–8654.
- Löffler, G., 2007. Biochemie und Pathobiochemie. In: Löffler, G., Petrides, P.E., Heinrich, P.C. (Hrsg.): *Stoffwechsel der Zelle: Intermediärstoffwechsel*. 8. Aufl., 357–536, Springer-Medizin-Verl, Heidelberg.
- Lowell, B.B., S-Susulic, V., Hamann, A., Lawitts, J.A., Himms-Hagen, J., Boyer, B.B., Kozak, L.P., Flier, J.S., 1993. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature* 366, 740–742.
- Lyssenko, V., Jonsson, A., Almgren, P., Pulizzi, N., Isomaa, B., Tuomi, T., Berglund, G., Altshuler, D., Nilsson, P., Groop, L., 2008. Clinical Risk Factors, DNA Variants, and the Development of Type 2 Diabetes. *N. Engl. J. Med.* 359, 2220–2232.
- Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F., Turner, R.C., 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28, 412–419.
- Maxim Integrated Products, Inc., 2015. iButton Temperature Loggers with 8KB Datalog Memory (DS1922L/DS1922T), Datenblatt. 1-52.
- Mensink, G.B.M., Schienkiewitz, A., Haftenberger, M., Lampert, T., Ziese, T., Scheidt-Nave, C., 2013. Übergewicht und Adipositas in Deutschland: Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 56, 786–794.
- Merkel, M., Schmid, S.M., Iwen, K.A., 2019. Physiologie und klinische Bedeutung von weißem, beigem und braunem Fettgewebe. *Internist* 60, 115–121.

- Moonen, M.P.B., Nascimento, E.B.M., van Marken Lichtenbelt, W.D., 2019. Human brown adipose tissue: Underestimated target in metabolic disease? *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* 1864, 104–112.
- Morton, G.J., Muta, K., Kaiyala, K.J., Rojas, J.M., Scarlett, J.M., Matsen, M.E., Nelson, J.T., Acharya, N.K., Piccinini, F., Stefanovski, D., Bergman, R.N., Taborsky, G.J., Jr., Kahn, S.E., Schwartz, M.W., 2017. Evidence That the Sympathetic Nervous System Elicits Rapid, Coordinated, and Reciprocal Adjustments of Insulin Secretion and Insulin Sensitivity During Cold Exposure. *Diabetes* 66, 823–834.
- Mullins, G.R., Wang, L., Raje, V., Sherwood, S.G., Grande, R.C., Boroda, S., Eaton, J.M., Blancquaert, S., Roger, P.P., Leitinger, N., Harris, T.E., 2014. Catecholamine-induced lipolysis causes mTOR complex dissociation and inhibits glucose uptake in adipocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 17450–17455.
- Nedergaard, J., Bengtsson, T., Cannon, B., 2007. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* 293, E444–E452.
- Nedergaard, J., Golozoubova, V., Matthias, A., Asadi, A., Jacobsson, A., Cannon, B., 2001. UCP1: the only protein able to mediate adaptive non-shivering thermogenesis and metabolic inefficiency. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Bioenerg.* 1504, 82–106.
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B., Graetz, N., Margono, C., Mullany, E.C., Biryukov, S., Abbafati, C., Abera, S.F., Abraham, J.P., Abu-Rmeileh, N.M.E., Achoki, T., AlBuhairan, F.S., Alemu, Z.A., Alfonso, R., Ali, M.K., Ali, R., Guzman, N.A., Ammar, W., Anvari, P., Banerjee, A., Barquera, S., Basu, S., Bennett, D.A., Bhutta, Z., Blore, J., Cabral, N., Nonato, I.C., Chang, J.-C., Chowdhury, R., Courville, K.J., Criqui, M.H., Cundiff, D.K., Dabhadkar, K.C., Dandona, L., Davis, A., Dayama, A., Dharmaratne, S.D., Ding, E.L., Durrani, A.M., Esteghamati, A., Farzadfar, F., Fay, D.F.J., Feigin, V.L., Flaxman, A., Forouzanfar, M.H., Goto, A., Green, M.A., Gupta, R., Hafezi-Nejad, N., Hankey, G.J., Harewood, H.C., Havmoeller, R., Hay, S., Hernandez, L., Husseini, A., Idrisov, B.T., Ikeda, N., Islami, F., Jahangir, E., Jassal, S.K., Jee, S.H., Jeffreys, M., Jonas, J.B., Kabagambe, E.K., Khalifa, S.E.A.H., Kengne, A.P., Khader, Y.S., Khang, Y.-H., Kim, D., Kimokoti, R.W., Kinge, J.M., Kokubo, Y., Kosen, S., Kwan, G., Lai, T., Leinsalu, M., Li, Y., Liang, X., Liu, S., Logroscino, G., Lotufo, P.A., Lu, Y., Ma, J., Mainoo, N.K., Mensah, G.A., Merriman, T.R., Mokdad, A.H., Moschandreas, J., Naghavi, M., Naheed, A., Nand, D., Narayan, K.M.V., Nelson, E.L., Neuhouser, M.L., Nisar, M.I., Ohkubo, T., Oti, S.O., Pedroza, A., Prabhakaran, D., Roy, N., Sampson, U., Seo, H., Sepanlou, S.G., Shibuya, K., Shiri, R., Shiue, I., Singh, G.M., Singh, J.A., Skirbekk, V., Stapelberg, N.J.C., Sturua, L., Sykes, B.L., Tobias, M., Tran, B.X., Trasande, L., Toyoshima, H., van de Vijver, S., Vasankari, T.J., Veerman, J.L., Velasquez-Melendez, G., Vlassov, V.V., Vollset, S.E., Vos, T., Wang, C., Wang, X., Weiderpass, E., Werdecker, A., Wright, J.L., Yang, Y.C., Yatsuya, H., Yoon, J., Yoon, S.-J., Zhao, Y., Zhou, M., Zhu, S., Lopez, A.D.,

- Murray, C.J.L., Gakidou, E., 2014. 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. *The Lancet* 384, 766–781.
- Orava, J., Nuutila, P., Lidell, M.E., Oikonen, V., Nojonen, T., Viljanen, T., Scheinin, M., Taittonen, M., Niemi, T., Enerbäck, S., Virtanen, K.A., 2011. Different Metabolic Responses of Human Brown Adipose Tissue to Activation by Cold and Insulin. *Cell Metab.* 14, 272–279.
- Orava, J., Nuutila, P., Nojonen, T., Parkkola, R., Viljanen, T., Enerbäck, S., Rissanen, A., Pietiläinen, K.H., Virtanen, K.A., 2013. Blunted metabolic responses to cold and insulin stimulation in brown adipose tissue of obese humans: Blunted Responses in BAT of Obese Humans. *Obesity* 21, 2279–2287.
- Ouellet, V., Labbé, S.M., Blondin, D.P., Phoenix, S., Guérin, B., Haman, F., Turcotte, E.E., Richard, D., Carpentier, A.C., 2012. Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. *J. Clin. Invest.* 122, 545–552.
- Ouellet, V., Routhier-Labadie, A., Bellemare, W., Lakhil-Chaieb, L., Turcotte, E., Carpentier, A.C., Richard, D., 2011. Outdoor Temperature, Age, Sex, Body Mass Index, and Diabetic Status Determine the Prevalence, Mass, and Glucose-Uptake Activity of <sup>18</sup>F-FDG-Detected BAT in Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 96, 192–199.
- Petrovic, N., Walden, T.B., Shabalina, I.G., Timmons, J.A., Cannon, B., Nedergaard, J., 2010. Chronic Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) Activation of Epididymally Derived White Adipocyte Cultures Reveals a Population of Thermogenically Competent, UCP1-containing Adipocytes Molecularly Distinct from Classic Brown Adipocytes. *J. Biol. Chem.* 285, 7153–7164.
- Rada, P., González-Rodríguez, Á., García-Monzón, C., Valverde, Á.M., 2020. Understanding lipotoxicity in NAFLD pathogenesis: is CD36 a key driver? *Cell Death Dis.* 11, 802.
- Recipe Chemicals + Instruments GmbH, 2024. HPLC&LC-MS/MS, IVD Complete Kits. Product Catalogue I, 2024/2025, 16-17. Recipe Chemicals + Instruments GmbH, Dessauerstr. 3 80992 München, Deutschland.  
URL: <https://recipe.de/de/products/katecholamine-in-plasma-2/> (Tag des Zugriffs: 13.08.2024).
- Ricquier, D., Nechad, M., Mory, G., 1982. Ultrastructural and biochemical characterization of human brown adipose tissue in pheochromocytoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 54, 803–807.

- Rosenwald, M., Wolfrum, C., 2014. The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. *Adipocyte* 3, 4–9.
- Saito, M., Okamatsu-Ogura, Y., Matsushita, M., Watanabe, K., Yoneshiro, T., Nio-Kobayashi, J., Iwanaga, T., Miyagawa, M., Kameya, T., Nakada, K., Kawai, Y., Tsujisaki, M., 2009. High Incidence of Metabolically Active Brown Adipose Tissue in Healthy Adult Humans. *Diabetes* 58, 1526–1531.
- Scheele, C., Wolfrum, C., 2020. Brown Adipose Crosstalk in Tissue Plasticity and Human Metabolism. *Endocr. Rev.* 41, 53–65.
- Schmidt, R.F., 2011. Physiologie des Menschen: Mit Pathophysiologie. In: Schmidt, R.F., Lang, F., Heckmann, M. (Hrsg.): Regulation vegetativer Funktionen: Hormone. 31. Aufl., 449-458, Springer-Medizin-Verl, Heidelberg.
- Schönbaum, E., Johnson, G.E., Sellers, E.A., Gill, M.J., 1966. Adrenergic  $\beta$ -Receptors and Non-shivering Thermogenesis. *Nature* 210, 426–426.
- Seale, P., Bjork, B., Yang, W., Kajimura, S., Chin, S., Kuang, S., Scimè, A., Devarakonda, S., Conroe, H.M., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Rudnicki, M.A., Beier, D.R., Spiegelman, B.M., 2008. PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature* 454, 961–967.
- Segal, K.R., Gutin, B., Presta, E., Wang, J., Van Itallie, T.B., 1985. Estimation of human body composition by electrical impedance methods: a comparative study. *J. Appl. Physiol.* 58, 1565–1571.
- Smith, A.D.H., Crabtree, D.R., Bilzon, J.L.J., Walsh, N.P., 2010. The validity of wireless iButtons® and thermistors for human skin temperature measurement. *Physiol. Meas.* 31, 95–114.
- Smith, R.E., Horwitz, B.A., 1969. Brown fat and thermogenesis. *Physiol. Rev.* 49, 330-425.
- Stanford, K.I., Middelbeek, R.J.W., Townsend, K.L., An, D., Nygaard, E.B., Hitchcox, K.M., Markan, K.R., Nakano, K., Hirshman, M.F., Tseng, Y.-H., Goodyear, L.J., 2013. Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. *J. Clin. Invest.* 123, 215–223.
- Sun, G., French, C.R., Martin, G.R., Younghusband, B., Green, R.C., Xie, Y., Mathews, M., Barron, J.R., Fitzpatrick, D.G., Gulliver, W., Zhang, H., 2005. Comparison of multifrequency bioelectrical impedance analysis with dual-energy X-ray absorptiometry for assessment of percentage body fat in a large, healthy population. *Am. J. Clin. Nutr.* 81, 74–78.

- Thorens, B., 2015. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. *Diabetologia* 58, 221–232.
- Tripathy, D., Wessman, Y., Gullstrom, M., Tuomi, T., Groop, L., 2003. Importance of Obtaining Independent Measures of Insulin Secretion and Insulin Sensitivity During the Same Test: Results with the Botnia clamp. *Diabetes Care* 26, 1395–1401.
- van der Lans, A.A.J.J., Hoeks, J., Brans, B., Vijgen, G.H.E.J., Visser, M.G.W., Vosselman, M.J., Hansen, J., Jörgensen, J.A., Wu, J., Mottaghy, F.M., Schrauwen, P., van Marken Lichtenbelt, W.D., 2013. Cold acclimation recruits human brown fat and increases nonshivering thermogenesis. *J. Clin. Invest.* 123, 3395–3403.
- van der Lans, A.A.J.J., Vosselman, M.J., Hanssen, M.J.W., Brans, B., van Marken Lichtenbelt, W.D., 2016. Supraclavicular skin temperature and BAT activity in lean healthy adults. *J. Physiol. Sci.* 66, 77–83.
- van Marken Lichtenbelt, W.D., Vanhommerig, J.W., Smulders, N.M., Drossaerts, J.M., Kemerink, G.J., Bouvy, N.D., Schrauwen, P. and Teule, G.J., 2009. Cold-activated Brown Adipose Tissue in Healthy Men. *N. Engl. J. Med.* 360, 1500-1508.
- van Marken Lichtenbelt, W., Daanen, H., Wouters, L., Fronczek, R., Raymann, R., Severens, N., Vansomerem, E., 2006. Evaluation of wireless determination of skin temperature using iButtons. *Physiol. Behav.* 88, 489–497.
- Vijgen, G.H.E.J., Bouvy, N.D., Teule, G.J.J., Brans, B., Hoeks, J., Schrauwen, P., van Marken Lichtenbelt, W.D., 2012. Increase in Brown Adipose Tissue Activity after Weight Loss in Morbidly Obese Subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97, E1229–E1233.
- Villarroya, J., Cereijo, R., Gavaldà-Navarro, A., Peyrou, M., Giralt, M., Villarroya, F., 2019. New insights into the secretory functions of brown adipose tissue. *J. Endocrinol.* 243, R19–R27.
- Virtanen, K.A., Lidell, M.E., Orava, J., Heglind, M., Westergren, R., Niemi, T., Taittonen, M., Laine, J., Savisto, N.-J., Enerbäck, S., Nuutila, P., 2009. Functional Brown Adipose Tissue in Healthy Adults. *N. Engl. J. Med.* 360, 1518–1525.
- Wang, Q., Zhang, M., Ning, G., Gu, W., Su, T., Xu, M., Li, B., Wang, W., 2011. Brown Adipose Tissue in Humans Is Activated by Elevated Plasma Catecholamines Levels and Is Inversely Related to Central Obesity. *PLoS ONE* 6, e21006.
- Weir, J.B. de V., 1949. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J. Physiol.* 109, 1–9.

- WHO, 2021. Obesity and overweight. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (Tag des Zugriffs: 01.10.2022).
- WHO, 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 894, i–xii, 1–253.
- Williams, K.J., 2008. Molecular processes that handle — and mishandle — dietary lipids. *J. Clin. Invest.* 118, 3247–3259.
- Wu, J., Boström, P., Sparks, L.M., Ye, L., Choi, J.H., Giang, A.-H., Khandekar, M., Virtanen, K.A., Nuutila, P., Schaart, G., Huang, K., Tu, H., van Marken Lichtenbelt, W.D., Hoeks, J., Enerbäck, S., Schrauwen, P., Spiegelman, B.M., 2012. Beige Adipocytes Are a Distinct Type of Thermogenic Fat Cell in Mouse and Human. *Cell* 150, 366–376.
- Yoneshiro, T., Aita, S., Matsushita, M., Kayahara, T., Kameya, T., Kawai, Y., Iwanaga, T., Saito, M., 2013. Recruited brown adipose tissue as an antiobesity agent in humans. *J. Clin. Invest.* 123, 3404–3408.
- Young, P., Arch, J. r. s., Ashwell, M., 1984. Brown adipose tissue in the parametrial fat pad of the mouse. *FEBS Lett.* 167, 10–14.
- Zingaretti, M.C., Crosta, F., Vitali, A., Guerrieri, M., Frontini, A., Cannon, B., Nedergaard, J., Cinti, S., 2009. The presence of UCP1 demonstrates that metabolically active adipose tissue in the neck of adult humans truly represents brown adipose tissue. *FASEB J.* 23, 3113–3120.

## 7. Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

### 7.1. Abbildungen

<b>Abb. 1:</b> schematischer Aufbau der Versuchstage. Bedingungen 25°C (rot) und 16°C (rot-blau).....	17
<b>Abb. 2:</b> Lokalisationen der iButtons® .....	21
<b>Abb. 3:</b> Grafische Darstellung der Körperkerntemperatur. ....	26
<b>Abb. 4:</b> iButton®-Analyse:.....	28
<b>Abb. 5:</b> Blutglukosekonzentrationen während des Botnia Clamps (ivGTT und HEC).....	29
<b>Abb. 6:</b> Area Under The Curve (AUC) der Blutglukosekonzentrationen während des intravenösen Glukosetoleranztests (ivGTT).....	30
<b>Abb. 7:</b> Insulinkonzentrationen während des Botnia Clamps (ivGTT und HEC).....	31
<b>Abb. 8:</b> Area Under The Curve (AUC) der Insulinkonzentrationen während des intravenösen Glukosetoleranztests (ivGTT). ....	33
<b>Abb. 9:</b> Darstellung von M-Value und des S <sub>I</sub> -Index.....	34
<b>Abb. 10:</b> Anstieg der NoradrenalinKonzentration.....	35
<b>Abb. 11:</b> Anstieg der Dopaminkonzentration. ....	36
<b>Abb. 12:</b> Abfall der AdrenalinKonzentration. ....	37
<b>Abb. 13:</b> Darstellung der Konzentration von Triglyzeriden. ....	38

### 7.2. Tabellen

<b>Tabelle 1:</b> Anthropometrische Daten und Blutwerte der Studienteilnehmer am Tag der Voruntersuchung. ....	25
<b>Tabelle 2:</b> Auswertung der BIA Daten jeweils vor Versuchsbeginn.....	25

## 8. Anhänge

### 8.1. Probandeninformation und Einverständniserklärung

Probandeninformation und Einverständniserklärung

#### Probandeninformation

##### 1. Allgemeine Informationen

Bitte lesen Sie diese Probandeninformation sorgfältig durch. Der betreuende Arzt dieser Studie wird mit Ihnen noch einmal die Studie besprechen. Bitte fragen Sie ihn, wenn Sie etwas nicht verstehen oder wenn Sie zusätzlich etwas wissen möchten.

**Titel der Studie: „Braunes Fettgewebe: Einfluss auf den menschlichen Fett- und Glukosestoffwechsel“**

Verantwortlicher Leiter/Träger der Studie: UKSH Campus Lübeck

Zentrale Kontaktstelle: Dr. med. Sebastian M. Schmid, UK-SH Campus Lübeck, Medizinische Klinik 1, Ratzeburger Allee 160, 23538 Lübeck, Tel +49 (0) 451 – 500 0 (-> pager 2210), E-Mail: Sebastian.Schmid@uk-sh.de

Sollten Sie weitere Fragen bezüglich der Studie haben, wenden Sie sich bitte an den aufklärenden Arzt oder direkt an die oben genannte zentrale Kontaktstelle.

##### 2. Informationen zur Studie

###### Hintergrund und Nutzen der Studie

Erst seit den 90er Jahren gehen Wissenschaftler davon aus, dass sogenanntes braunes Fettgewebe auch nach dem Säuglingsalter noch beim Menschen existiert. In neueren Studien konnte bei erwachsenen Probanden sogar eine Veränderung der Stoffwechselaktivität von braunem Fettgewebe in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur nachgewiesen werden. Der direkte Einfluss von Kälte auf das braune Fettgewebe, und somit auf Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels, wurde bisher jedoch fast ausschließlich nur im Tierversuch untersucht. Ob beim Menschen durch Kälteexposition der Stoffwechsel ebenso beeinflusst wird, ist noch unklar. Mit der Teilnahme an dieser Studie helfen Sie uns, die zugrunde liegenden Mechanismen der Verknüpfung von Kälteexposition, braunem Fettgewebe und menschlichem Energiestoffwechsel besser zu verstehen.

Das Ergebnis dieser Grundlagenforschung könnte in Zukunft zur Entwicklung neuer Therapiemöglichkeiten von Diabetes und Fettstoffwechselstörungen führen. Außer einer eingehenden körperlichen Untersuchung und einer Untersuchung Ihres Blutes besteht für Sie kein Eigennutzen an dieser Studie.

###### Ablauf der Studie

Es handelt sich um eine balancierte, within-person-Studie im Crossover-Design. Dies bedeutet, dass Sie an zwei Versuchssitzungen, bei denen Sie unterschiedlichen Temperaturbedingungen (25°C und 16°C) ausgesetzt werden, teilnehmen. Die Verteilung erfolgt balanciert. Diese Maßnahmen sollen ausschließen, dass das Versuchsergebnis durch Verhaltensweisen und subjektive Einschätzungen der den Versuch durchführenden Personen oder der Probanden verfälscht wird. Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig.

Sie werden vor Beginn der Studie körperlich untersucht. Dazu gehört eine Anamnese, eine Blutabnahme zur Kontrolle u.a. der Blutzellen- und Gerinnungswerte, des Fettstoffwechsels, der Leber- und der Nierenfunktion und des Blutzuckers. Ausschlusskriterien sind aktuelle und chronische internistische oder neurologische Erkrankungen, Bluthochdruck, Angststörungen, Alkohol- und Nikotinmissbrauch, Leistungssport (z.B. Marathonläufer) und besondere

## Probandeninformation und Einverständniserklärung

Belastungssituationen psychischer und physischer Art. Weder bei Ihnen noch bei Ihren Eltern oder Großeltern darf ein Diabetes mellitus Typ 2 bekannt sein. Sie dürfen in den vier Wochen vor Versuchsbeginn und während der Versuche nicht an anderen Studien teilnehmen, kein Blut spenden, keine Diät beginnen. Am Vortag der Versuche dürfen Sie sich keinen ungewöhnlich hohen und niedrigen Temperaturen (z.B. Eisbaden, Saunagang) aussetzen, keinen Sport treiben und auch sonst keine körperlich anstrengende Tätigkeit verrichten. Am Abend vor dem Versuchstag sollten Sie ihre letzte Mahlzeit nicht nach 20 Uhr einnehmen und nicht später als 22 Uhr zu Bett gehen. Am Versuchstag selbst sollten Sie sich gesund fühlen und **nüchtern** zum Versuchsbeginn erscheinen.

Sie nehmen an zwei Versuchssitzungen teil (s. Abbildung 1). Jede Sitzung erstreckt sich über etwa 7 Stunden. Zu allen Versuchssitzungen erscheinen Sie **bitte pünktlich** um **7.50 Uhr** im Institut für Neuroendokrinologie, UK-SH, Campus Lübeck, Haus 50, 2. Obergeschoss.

<b><u>1. Versuchssitzung</u></b>
08:00 – 10:00 Vorbereitung & Anpassung an die Temperaturbedingung (25°C) 10:00 – 10:45 indirekte Kalorimetrie 10:45 – 11:30 Anpassung an die Temperaturbedingungen (25°C oder 16°C) 11:30 – 12:30 indirekte Kalorimetrie 2 12:30 – 13:30 Glukosetoleranztest 13:30 – 16:00 hyperinsulinämischer euglykämischer Clamp 16:00 – 16:30 Abschlussuntersuchung
2 Wochen Pause
<b><u>2. Versuchssitzung</u></b>
08:00 – 10:00 Vorbereitung & Anpassung an die Temperaturbedingung (25°C) 10:00 – 10:45 indirekte Kalorimetrie 10:45 – 11:30 Anpassung an die Temperaturbedingungen (25°C oder 16°C) 11:30 – 12:30 indirekte Kalorimetrie 2 12:30 – 13:30 Glukosetoleranztest 13:30 – 16:00 hyperinsulinämischer euglykämischer Clamp 16:00 – 16:30 Abschlussuntersuchung

Abbildung 1: Übersicht Versuchsablauf

Bei den Versuchssitzungen erfolgt nach Ihrer Ankunft im Schlaflabor die Durchführung verschiedener psychologischer (Erhebung von Wahrnehmung und Befindlichkeit) Tests. Außerdem werden zwei Venenverweilkatheter angelegt, die es uns ermöglichen, immer wieder Blut abzunehmen ohne Sie erneut stechen zu müssen

Anschließend erfolgt die Messung des Sauerstoffverbrauchs und der Kohlenstoffdioxidproduktion mithilfe einer Atemmaske, die Sie für ca. 1 Stunde tragen müssen. Die dabei gewonnenen Ergebnisse ermöglichen uns die Berechnung Ihres Ruheenergieverbrauchs (indirekte Kalorimetrie).

## Probandeninformation und Einverständniserklärung

Danach erhalten Sie zunächst eine Zucker-(Glucose)-Infusion (Glukosetoleranztest) und im weiteren Verlauf eine gleichzeitige Infusion von Insulin und Zucker (Glucose) in einer Ihrem Körpergewicht angepassten Menge über einen Venenzugang. Über einen zweiten Zugang messen wir alle 5 Minuten Ihren Blutzucker und halten diesen auf einem normwertigen Niveau von 90 – 95 mg/dl. In diesem Verfahren (sog. „Glukose-Clamp-Verfahren“) wird Ihr Blutzucker im physiologischen, d.h. normwertigen Bereich gehalten. Anschließend wird die Infusion über die Vene beendet und der Blutzuckerspiegel für weitere 30 Minuten überwacht. Während der Infusion von Zuckerlösung und Insulin ist jederzeit ein Arzt im Hintergrund, der bei Zeichen von Unverträglichkeit oder bei sonstigen Beeinträchtigungen innerhalb von kurzer Zeit einschreiten kann.

Sie tragen während der gesamten Zeit des Versuches einen Ganzkörperanzug zur Einstellung der jeweiligen Versuchstemperatur.

Es werden Blutproben zur Messung des Blutzuckerspiegels und verschiedener Hormone entnommen. Insgesamt werden Ihnen ca. 250 ml Blut im Verlauf einer Sitzung abgenommen (zum Vergleich: eine Blutspende entspricht ca. 500 ml Blut).

Darüber hinaus geben Sie jeweils drei Urinproben ab. Nach einer Wiederholung der Tests zur Wahrnehmung und Befindlichkeit ist die Versuchssitzung gegen 16:30 Uhr beendet.

**Zusammenfassend besteht die Studie für Sie als Proband aus zwei Sitzungen im Abstand von mindestens zwei Wochen mit jeweils einem euglykämischen Clamp, einer Atemgasmessung und der Entnahme von jeweils 250 ml Blut, sowie der Abgabe von drei Urinproben pro Sitzung.**

### **3. Risiken der Studie**

Durch eine gleichzeitige Gabe von Insulin und Zuckerlösung werden wir Ihren Blutzuckerspiegel während des **hyperinsulinämischen euglykämischen Clamps** im physiologischen, d.h. **normwertigen Bereich** halten. Eine Unterzuckerung ist zwar theoretisch möglich, das Auftreten derselben jedoch sehr unwahrscheinlich, da wir Ihren Blutzuckerspiegel in engem zeitlichem Abstand bestimmen und sofort auf mögliche Abweichungen aus dem Normbereich reagieren. Eine theoretisch mögliche Unterzuckerung ruft in Ihrem Körper eine Gegenregulation hervor, die Sie möglicherweise als Stress erleben (möglich ist: Zittern, Hunger, Herzklopfen, Schwitzen, Nervosität u.a.). Bei empfindlichen Personen mit einer Neigung zu Krampfleiden kann eine schwere Unterzuckerung einen Krampfanfall auslösen. Bei schweren Unterzuckerungen ist ein sehr geringes theoretisches Risiko einer Nervenzellschädigung im Gehirn verbunden, die allerdings erst bei lang andauernden und sehr tiefen Unterzuckerungen auftreten kann. Die Insulin- und Zuckerinfusion wird während des Versuchs genau geregelt, wobei die Blutzuckerwerte in Abständen von 5 Minuten und bei Bedarf noch engmaschiger kontrolliert werden.

Die Risiken der **Blutentnahme** und Infusion von Zuckerlösung in die Vene beinhalten u.a.: Fehlpunktionen mit Verletzungen von Nerven und Gefäßen mit Bildung von Blutergüssen, Venenentzündung, ggf. Armvenenthrombose, Weichteilentzündungen nach Austreten der Glukoseinfusion aus einem verletzten Gefäß. Diese Nebenwirkungen treten aber bei sachgerechter Durchführung sehr selten auf.

Die Messung des **Ruheenergieverbrauchs** über die indirekte Kalorimetrie wird von geschultem Personal durchgeführt. Sie werden dabei durchgehend überwacht, sodass Komplikationen, sehr unwahrscheinlich sind.

Die **Versuchstemperatur von 16 °C** wurde von Probanden einer vorausgegangenen Studie als moderat empfunden. Die Körpertemperatur wird zudem ständig überwacht, wodurch das Risiko einer Unterkühlung sehr gering gehalten wird.

#### **4. Datenschutzrechtliche Informationen**

Für die Datenverarbeitung verantwortlich ist Dr. med. Sebastian Schmid, Arzt am UKSH, Campus Lübeck. Die Datenerhebung erfolgt zum Zweck des oben genannten Studienziels, also der Aufklärung von Kälteexposition auf die Regulation des Fett- und Glukosestoffwechsels. Aus der Voruntersuchung erhalten wir persönliche Daten und Untersuchungsbefunde, aus den Testverfahren und Blutentnahmen während des Versuchs erhalten wir verschiedene Daten über die Reaktion Ihres Körpers auf Kälteeinwirkung, wie z.B. Hormonkonzentrationen und Energieverbrauch.

Diese Daten werden in pseudonymisierter Form, d.h. ohne direkten Bezug zu Ihrem Namen, elektronisch gespeichert und ausgewertet. Die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes werden eingehalten. Zugriff auf Ihre Daten haben nur Mitarbeiter der Studie. Diese Personen sind zur Verschwiegenheit verpflichtet. Eine Weitergabe der persönlichen Daten an Dritte ist nicht vorgesehen. Die Daten sind vor fremdem Zugriff geschützt. Die personenbezogenen Daten werden nach Beendigung der Studie anonymisiert, soweit gesetzliche Vorgaben nicht längere Archivierungspflichten vorsehen.

#### **5. Hinweise für den Versuchsteilnehmer**

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Sie können jederzeit ohne Angabe von Gründen die Teilnahme an der Studie beenden, ohne dass dadurch Nachteile für Sie entstehen.

Am Tag vor den Versuchstagen sollten Sie keinen Sport treiben oder andere anstrengende körperliche Aktivitäten verrichten. Die letzte Nahrungsaufnahme vor Versuchsbeginn sollte ein reguläres Abendessen nicht nach 20:00 Uhr sein. Am Morgen des Testtages erscheinen Sie dann bitte um 8.00 Uhr zum eigentlichen Versuch. Bitte achten Sie darauf, im Anschluss an den Versuch etwas zu essen, damit sie fit und verkehrstüchtig sind.

#### **6. Aufwandsentschädigung**

Für Ihre Teilnahme an dieser Studie erhalten Sie nach Beendigung Ihrer zwei Versuchssitzungen eine Aufwandsentschädigung von insgesamt 150,- €.

Vielen Dank für Ihr Interesse.

Probandeninformation und Einverständniserklärung

**Einverständniserklärung**

zur klinisch-experimentellen Studie

**„Braunes Fettgewebe: Einfluss auf den menschlichen Fett- und Glukosestoffwechsel“**

Ich bestätige hiermit durch meine Unterschrift, dass ich die Informationsschrift zur Studie erhalten, gelesen und die geplanten Untersuchungen verstanden habe. Ich hatte Gelegenheit alle meine Fragen zu stellen. Diese wurden zufriedenstellend und vollständig beantwortet.

Ich wurde ausführlich – mündlich und schriftlich – über das Ziel und den Verlauf der Studie, Chancen und Risiken der Behandlung, meine Rechte und Pflichten, den mir zustehenden Versicherungsschutz und die Freiwilligkeit der Teilnahme aufgeklärt.

Ich erkläre hiermit meine Teilnahme an der oben genannten Studie und dass ich in der Zeit vier Wochen vor und während der Studie nicht an anderen Studien teilnehmen und kein Blut spenden werde.

Ich hatte ausreichend Zeit, mich gegen die Teilnahme an der Studie zu entscheiden und willige hiermit in die Teilnahme ein. Ich wurde darauf hingewiesen, dass meine Teilnahme freiwillig ist und dass ich jederzeit ohne Angabe von Gründen zurücktreten kann und/oder die Vernichtung meiner Blutproben und erhobenen Daten verlangen kann ohne dass mir dadurch Nachteile entstehen.

Meine Daten und die mir entnommenen Blutproben werden ausschließlich für die oben genannte Studie verwendet und nicht an Dritte weitergegeben. Es gelten die Richtlinien des Datenschutzes und der ärztlichen Schweigepflicht. Ich wurde über meine Datenschutzrechte informiert. Mit der Erhebung, Verarbeitung und Speicherung meiner Daten, sowie der Übermittlung im Rahmen der Studie bin ich einverstanden. Tritt im Rahmen der Studiendurchführung ein Schaden auf, der den Studienteilnehmern durch das schuldhafte Verhalten eines Beschäftigten des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH) zugefügt wurde, haftet die gesetzliche Haftpflicht des UKSH.

**Proband:**

---

Name, Vorname	Datum	Unterschrift
---------------	-------	--------------

**Betreuender Studienarzt:**

---

Name, Vorname	Datum	Unterschrift
---------------	-------	--------------

## **8.2. Eigenständigkeitserklärung**

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Die Stellen der Arbeit, die dem Wortlaut oder dem Sinn nach anderen Werken entnommen sind, wurden unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Lübeck, 31.01.2024

---

Leonie Evans

## **8.3. Erklärung zum Ethikvotum**

Die vorliegende human-experimentelle Studie mit dem Arbeitstitel „Der Einfluss von aktiviertem braunen Fettgewebe auf den Glukose- und Lipidstoffwechsel bei Menschen mit Adipositas Grad I“ wurde dem Studienleiter Prof. Dr. med. Sebastian Meyhöfer unter dem Aktenzeichen 12-030 am 16.07.2014 durch die Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt.

## 9. Danksagungen

Ich bin überglücklich, diese Arbeit mit Hilfe der folgenden Personen fertiggestellt zu haben:

Mein erster Dank gilt vor allem **Prof. Dr. med. Sebastian M. Meyhöfer** für die Idee dieser Studie, die Einführung in die Thematik sowie die gute Betreuung und wissenschaftliche Zusammenarbeit, ohne den diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Meiner Studienpartnerin **Dr. rer. nat. Jenny Backhaus** gilt mein wärmster Dank für die großartige Zusammenarbeit und für die gemeinsamen langen und interessanten Versuchstage mit unseren Probanden. Ihre gut gelaunte und wissbegierige Art war besonders ansteckend. Zudem danke ich ihr für die gemeinsame Aufarbeitung und statistische Auswertung unserer Daten.

**PD. Dr. oec. troph. Britta Wilms** gilt mein herzlichster Dank für die Unterstützung bei der endgültigen Auswertung und Interpretation der Daten, sowie für die vielen Tipps und Tricks zur Fertigstellung dieser Arbeit. Unsere Telefonate haben mich stetig motiviert.

**Prof. Dr. med. Sebastian M. Meyhöfer, Prof. Dr. rer. nat. Jens Mittag und Prof. Dr. med. Dr. h.c. Hendrik Lehnert** gilt mein Dank für die Bereitstellung der Mittel und Räumlichkeiten im Institut für Endokrinologie und Diabetes im CBBM der Universität zu Lübeck und in der Medizinischen Klinik I der Universität zu Lübeck.

**Dr. med. Alex Iwen** bin ich für die Hilfestellung bei statistischen und klinischen Fragen ebenfalls sehr dankbar.

Dem **GRK 1957** danke ich sehr für die vielen spannenden Workshops und Seminare, den regen wissenschaftlichen Austausch mit weiteren Promotionsstudenten und Wissenschaftlern, das Stipendium und die weitere Unterstützung im Prozess der Doktorarbeit.

Besonders **Anne Windjäger**, als auch **Christiane Otten** und **Dr. med. Volker Ott** danke ich dafür, dass sie mir ständige Ansprechpartner/-innen während der Studienphase waren und für ihre Unterstützung beim Erlernen und Durchführen der Methodik.

Für die Bestimmung der Hormonkonzentrationen möchte ich mich herzlich bei **Martina Groß** und **Susanne Behling** bedanken, die jederzeit ein offenes Ohr für Fragen und Anliegen hatten.

Ein großer Dank gilt zuletzt auch **meiner Familie, meiner Studiums-WG** und **meinem Mann** für die ständige Unterstützung, die Entlastung und die dauerhafte Motivation während dieser intensiven Zeit.

