ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ- ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Μεταβολική δραστηριότητα φαιού λίπους σε ενήλικες μετά από ήπια έκθεση στο κρύο.

ΖΑΓΚΟΤΣΗ ΓΕΩΡΓΙΑ

Επιβλέπων καθηγητής: Συντώσης Λάμπρος

Τριμελής Επιτροπή:

Συντώσης Λάμπρος, Καθηγητής Διαιτολογίας - Διατροφής

Νομικός Τζώρτζης, Επίκουρος Καθηγητής Βιοχημείας

Κοντογιάννη Μερόπη, Επίκουρη Καθηγήτρια Κλινικής Διατροφής

Αθήνα 2015

ΤΙΤΛΟΣ

Μεταβολική δραστηριότητα φαιού λίπους σε ενήλικες μετά από ήπια έκθεση στο κρύο.

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαιτέρως τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ Συντώση ο οποίος αποτελεί πηγή έμπνευσης για μένα, καθώς και τη Χονδρονικόλα Μαρία για την άμεση ανταπόκριση της, την υποστήριξη και την καθοδήγηση.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω και να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου σε όλους όσους εργάζονται στο εν λόγω Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών για τις υπηρεσίες που προσφέρουν και για το υψηλό επίπεδο των σπουδών.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω για τη στήριξη και τη συμπαράσταση τους τον άντρα μου Θοδωρή και την οικογένειά μου.

Συντομογραφίες

BAT	Brown Adipose Tissue	Φαιός Λιπώδης Ιστός
BMI	Body Mass Index	Δείκτης Μάζας Σώματος
CE	Cold Exposure	Έκθεση στο κρύο
DXA	Dual X-Ray Absorptiometry	Απορροφησιμομετρία Ακτινών Χ Διπλής Ενέργειας
HBAT	High Brown Adipose Tissue	Υψηλός Όγκος Φαιού Λίπους
LBAT	Low Brown Adipose Tissue	Χαμηλός Όγκος Φαιού Λίπους
PET/CT	Positron Emission Tomography /Computed tomography	Τομογραφία Εκπομπής Ποζιτρονίων /Αξονική Τομογραφία
REE	Resting Energy Expenditure	Βασικός Μεταβολισμός Ηρεμίας
TN	Thermoneutral conditions	Θερμο-ουδέτερες συνθήκες
WAT	White Adipose tissue	Λευκός Λιπώδης Ιστός
18F-FDG	18F-Fluoro-Deoxy-Glucose	18F-Φθόρο-Δεοξυ-Γλυκόζη

Περιεχόμενα

1. Περίληψη 7

1. Abstract 8

2. Εισαγωγή 9

2.1 Φαιός λιπώδης ιστός και θερμογένεση 11

2.1.1 Η θερμογένεση κατά την έκθεση στο κρύο 11

2.1.2 Η θερμογένεση στο φαιά λιποκύτταρα και η δράση της UCP1 12

2.1.3. Η επίδραση της ινσουλίνης στη θερμογένεση στον BAT 15

2.2. «Φαιοποίηση» του λευκού λιπώδους ιστού και μπεζ λιποκύτταρα 16

2.2.1. Μπεζ λιποκύτταρα 16

2.2.2. Παράγοντες φαιοποίησης του λευκού λιπώδους ιστού 17

2.3. BAT και ενήλικες 20

2.3.1. Ο επιπολασμός του BAT στους ενήλικες 20

2.3.2. Παράγοντες που συσχετίζονται με την εμφάνιση του BAT στους ενήλικες 21

2.3.3. Έκθεση στο κρύο και μεταβολική δραστηριότητα του BAT 22

2.4. Σκοπός 24

3. Μεθοδολογία 25

3.1. Δείγμα της έρευνας 25

3.2. Σχεδιασμός της έρευνας 25

3.3. Εξατομικευμένο πρωτόκολλο έκθεσης στο κρύο και θερμοουδέτερες συνθήκες 26

3.4. Εξέταση σε ποζιτρονικό / αξονικό τομογράφο (PET/CT) 27

3.5. Σύσταση σώματος 27

3.6. Έμμεση θερμιδομετρία 27

3.7. Στατιστική Ανάλυση 28

4. Αποτελέσματα 28

4.1 Χαρακτηριστικά Δείγματος 28

4.2 . Χαρακτηριστικά των δύο ομάδων ως προς τις θερμοκρασίες σώματος και του περιβάλλοντος χώρου 33

4.3 Βασικός μεταβολισμός των δύο ομάδων κατά την έκθεση στο κρύο και στις θερμοουδέτερες συνθήκες.....35

5. Συζήτηση.....38

6. Βιβλιογραφία.....44

1. Περίληψη

Εισαγωγή: Η ήπια έκθεση στο κρύο είναι ο πιο οικονομικός και φυσικός τρόπος ενεργοποίησης του φαιού λίπους (Brown Adipose Tissue-BAT) στους ενήλικες ανθρώπους και φαίνεται να αυξάνει το μεταβολισμό ηρεμίας σε εθελοντές που εμφανίζουν ενεργοποιημένο BAT.

Σκοπός : Ήταν να ερευνηθούν οι διαφορές στις αντιδράσεις κατά την έκθεση στο κρύο σε εθελοντές που εμφάνιζαν ενεργοποιημένο BAT και σε εθελοντές που δεν εμφάνιζαν. Επίσης να διερευνηθεί αν υπάρχει διαφορά στο μεταβολικό ρυθμό ηρεμίας ανάμεσα στις δύο αυτές ομάδες πριν και μετά την έκθεση στο κρύο.

Μέθοδος: Μετρήθηκαν οι θερμοκρασίες του δέρματος , του πυρήνα του σώματος καθώς και η μεταβολική δραστηριότητα σε 12 άνδρες εθελοντές (οι επτά εμφάνιζαν υψηλό όγκο φαιού λίπους HBAT- High BAT Volume και οι πέντε χαμηλό όγκο φαιού λίπους LBAT-Low Bat Volume) τόσο σε θερμοουδέτερες συνθήκες όσο και σε ήπια εξατομικευμένη έκθεση στο κρύο για οκτώ ώρες. Η κατάταξη των εθελοντών στις δύο ομάδες έγινε βάση της πρόσληψης της 18F-FDG κατά την εξέταση PET/CT.

Αποτελέσματα: Η θερμοκρασία πυρήνα στην ομάδα HBAT διέφερε στατιστικά σημαντικά από την LBAT (p=0,040), έχοντας 0,14 ºC υψηλότερη τιμή κατά την έκθεση στο κρύο. Η ομάδα HBAT είχε αυξημένο βασικό μεταβολισμό (p=0,048) σε σύγκριση με τις θερμοουδέτερες συνθήκες μετά από έξι ώρες έκθεσης στο κρύο και κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού, ενώ στις 3 ώρες και 45 λεπτά έκθεσης στο κρύο η διαφορά στο βασικό μεταβολισμό στην ίδια ομάδα περιορίζεται σε ενδεικτικής στατιστικής σημαντικότητας (p=0,072). Το ποσοστό αύξησης του βασικού μεταβολισμού στην ομάδα HBAT ήταν από 7% έως και 10% κατά τη διάρκεια του ευγλυκαιμικού υπερινσουλινικού κλαμπ.

Συμπέρασμα: Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η ομάδα HBAT εμφάνισε μεγαλύτερη θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο σε σύγκριση με την ομάδα LBAT. Η ήπια έκθεση στο κρύο τείνει να αυξάνει τον μεταβολικό ρυθμό ηρεμίας στην ομάδα HBAT.Ίσως μια ήπια έκθεση στο κρύο για λίγες ώρες κατά τη διάρκεια της ημέρας να αποτελεί έναν αποδεκτό και οικονομικό τρόπο αύξησης του βασικού μεταβολισμού και κατ' επέκταση της πρόληψης της παχυσαρκίας.

Λέξεις κλειδιά: φαιός λιπώδης ιστός, μεταβολική δραστηριότητα, ήπια έκθεση στο κρύο, ενήλικες.

1. Abstract

Background: Mild cold exposure seems to be an economic and a natural way to activate Brown Adipose Tissue (BAT) to adult humans. This seems to increase the Resting Energy Expenditure (REE) to volunteers who have activated BAT.

Objective: To study the differences in volunteers' reactions during their mild cold exposure. Two groups of volunteers were formed, those who had their BAT activated and those who had not. Furthermore, to study if there is a significant difference at the REE between those two groups at thermoneutral conditions and at mild cold exposure.

Methods: Skin temperature and body core temperature was calculated as well as the REE in 12 male volunteers (seven of them had High BAT Volume-HBAT, while five of them had Low BAT volume- LBAT) both at thermoneutral conditions and at mild cold exposure for eight hours. The classification of the volunteers was based on the intake of the 18F-FDG during the PET/CT.

Results: The body core temperature in HBAT group was significantly different from the LBAT group (p=0,040) having 0,14 ºC higher price during the mild cold exposure. The HBAT group had increased their REE (p=0,048) compared to the thermoneutral conditions after six hours of cold exposure during the Hyperinsulinemic Euglycemic clamp, while after 3 hours and 45 minutes cold exposure the difference in REE at the same groupis eliminated in indicative statistic significance (p=0,072). The HBAT group presented increasing percentage of the REE from 7% to 10% during the Hyperinsulinemic Euglycemic clamp.

Conclusion: According to the results of this study, the HBAT group showed bigger thermogenesis without muscle contraction compared to the LBAT group. Mild cold exposure tends to increase the REE in HBAT group. Maybe a mild cold exposure for a few hours during the day is an accepted and economic of increasing the REE and the prevention of obesity.

Key words: brown adipose tissue, metabolic activity, mild cold exposure, adults.

2. Εισαγωγή

Ο λιπώδης ιστός είναι ένας σημαντικός ιστός γιατί εκτός από την βασική ικανότητα του να αποθηκεύει λίπος, εμφανίζει και άλλες πληθώρες δράσεις στον οργανισμό. Διακρίνονται δύο είδη λιπώδους ιστού ο λευκός λιπώδης ιστός ή WAT (white adipose tissue) και ο φαιός λιπώδης ιστός ή BAT (brown adipose tissue). Ο WAT λειτουργεί όχι μόνο σαν αποθήκη ενέργειας, όπως μέχρι πρόσφατα θεωρείτο, αλλά εμφανίζει και ενδοκρινική δράση εκκρίνοντας ουσίες όπως ορμόνες, ιντερλευκίνες και αυξητικούς παράγοντες (1). Τα λιποκύτταρα του WAT εμφανίζουν λίγα μιτοχόνδρια, έχουν φτωχή αιμάτωση και χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη μιας μεγάλης "λιποσταγόνας" στο κυτταρόπλασμά τους. Από την άλλη ο BAT εμφανίζει διαφορέτικά μορφολογικά χαρακτηριστικά από τον WAT και λόγω της υψηλής συγκέντρωσης του σε μιτοχόνδρια καθώς και λόγω της μοναδικής έκφρασης της μιτοχονδιακής πρωτεΐνης UCP1 (uncoupling protein-1) ή αλλιώς θερμογενίνης, έχει την ιδιότητα να παράγει θερμότητα καταναλώνοντας ενέργεια ως απάντηση σε περιβαλλοντικές αλλαγές όπως είναι η έκθεση στο κρύο, αλλά και η πρόσληψη τροφής (2) (3).

Αντικείμενο ενδιαφέροντος της παρούσης ερευνητικής εργασίας είναι ο φαιός λιπώδης ιστός ο οποίος εντοπίζεται σε σχετικά μεγάλα ποσοστά στα νεογέννητα, στα πειραματόζωα, καθώς και στα θηλαστικά που πέφτουν σε χειμερία νάρκη. Αυτό συμβαίνει γιατί ο κύριος ρόλος του είναι η προστασία από το κρύο. Συνεπώς ως κύρια και σημαντικότερη λειτουργία του θεωρείται η γένεση θερμότητας μέσω της οξείδωσης ελεύθερων λιπαρών οξέων (4), (5). Με πιο απλά λόγια πρόκειται για ένα είδος λιπώδους ιστού που «καίει» λίπος.

Μέχρι πρόσφατα υπήρχε η πεποίθηση ότι ο BAT εντοπιζόταν στα νεογέννητα αλλά με την πάροδο της ηλικίας αυτός είτε χανόταν είτε γινόταν ανενεργός (6). Ωστόσο αυτή η άποψη αναθεωρήθηκε με σύγχρονες ανεξάρτητες μελέτες που έγιναν με τη βοήθεια της πυρηνικής ιατρικής και έδειξαν ότι υπάρχει ενεργός BAT και στους ενήλικες ανθρώπους. (4), (7), (8) , (9), (10). Έκτοτε έχουν προκύψει νέα δεδομένα που δείχνουν ότι η ενεργοποίηση του BAT είτε μέσω της έκθεσης στο κρύο, είτε μέσω φαρμακολογικής ή διαιτολογικής παρέμβασης μπορεί να αποτελέσει ένα θεραπευτικό μέσο ή ένα μέσο πρόληψης τόσο για την παχυσαρκία όσο και για τα μεταβολικά νοσήματα όπως είναι ο διαβήτης (11), (12), (13).

Η παχυσαρκία καθώς και τα συνοδά προβλήματα που προκύπτουν αποτελούν ένα μεγάλο πρόβλημα υγείας παγκοσμίως. Για τη θεραπεία της παχυσαρκίας έχει δοθεί περισσότερο βάρος στη μείωση της ενεργειακής πρόσληψης και στην αύξηση της ενεργειακής κατανάλωσης κυρίως μέσω της άσκησης. Η άσκηση φαίνεται να βοηθά στις μεταβολικές δυσλειτουργίες (ινσουλινοαντίσταση, δυσλιπιδαιμία), ωστόσο υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι έχει

περιορισμένη επίδραση όσον αφορά στην απώλεια βάρους (14) (15). Συνεπώς η ενεργοποίηση του BAT αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική προσέγγιση στην αύξηση της ενεργειακής κατανάλωσης και κατ' επέκταση της απώλειας βάρους.

Η έκθεση στο κρύο είναι ο πιο οικονομικός και φυσικός τρόπος ενεργοποίησης του BAT και φαίνεται να αυξάνει το μεταβολισμό ηρεμίας (16) καθώς και να βελτιώνει την ινσουλινοαντίσταση (17). Οι δράσεις αυτές δεν μπορούν να αποδοθούν αποκλειστικά στην ενεργοποίηση του BAT καθώς ή έκθεση στο κρύο προκαλεί και θερμογένεση μέσω του μυϊκού τρόμου. Φαίνεται ότι οι εσωτερικές κλιματικές συνθήκες που επικρατούν στους χώρους όπου ζει και εργάζεται ο σύγχρονος δυτικός άνθρωπος συσχετίζονται με την αύξηση του επιπολασμού της παχυσαρκίας (18). Συνεπώς μπορεί η έκθεση στο κρύο να αποτελεί μια εναλλακτική λύση για το πρόβλημα της παχυσαρκίας.

Ωστόσο η έντονη και παρατεταμένη έκθεση στο κρύο μπορεί να είναι δυσάρεστη και δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε ευρεία κλίμακα και για μεγάλο χρονικό διάστημα. Έτσι είναι ενδιαφέρον να ερευνηθεί περαιτέρω η επίδραση μιας ήπιας έκθεσης στο κρύο, κατά την οποία δεν προκαλείται μυϊκός τρόμος και είναι καλά και για μεγάλο χρονικό διάστημα ανεκτή, τι επίπτωση έχει στον ενεργειακό μεταβολισμό. Επίσης θα ήταν ενδιαφέρον να μελετηθεί η αντίδραση στην ήπια έκθεση στο κρύο ανθρώπων που εμφανίζουν ενεργό BAT σε σύγκριση με ανθρώπους που δεν εμφανίζουν.

Προκειμένου να γίνει κατανοητός ο ρόλος του φαιού λίπους στους ενήλικες ανθρώπους κατά την έκθεση τους στο κρύο θα πρέπει να αναφερθούν πρώτα κάποια στοιχεία που αφορούν γενικά στη διαδικασία της θερμογένεσης στον οργανισμό αλλά και πιο συγκεκριμένα στους μηχανισμούς θερμογένεσης στα φαιά λιποκύτταρα. Στη συνέχεια θα αναφερθούν νέα δεδομένα σχετικά με τον BAT στους ενήλικες ανθρώπους και τέλος θα αναφερθούν μελέτες που αφορούν στην έκθεση στο κρύο και στην ενεργοποίηση του BAT και τι επιπτώσεις φαίνεται να έχει αυτό στο μεταβολισμό και στην υγεία εν γένει, αντικείμενο που άπτεται και της παρούσας εργασίας.

2.1 Φαιός λιπώδης ιστός και θερμογένεση

2.1.1 Η θερμογένεση κατά την έκθεση στο κρύο

Η θερμογένεση διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε όλες τις μεταβολικές διαδικασίες και διακρίνεται σε δύο βασικές κατηγορίες, την υποχρεωτική και την δυνητική- προαιρετική θερμογένεση (facultative thermogenesis). Η υποχρεωτική είναι αναγκαία για τη ζωή διαδικασία και γίνεται συνέχεια ενώ η δυνητική αντιπροσωπεύει εκείνη την παραγωγή θερμότητας που μπορεί να ενεργοποιηθεί και να διακοπεί ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες. Η δυνητική θερμογένεση περιλαμβάνει διάφορες υποκατηγορίες, την εκούσια (άσκηση- κίνηση), την ακούσια (νευρική) δραστηριότητα, την επαγόμενη από τη δίαιτα θερμογένεση, τον επαγόμενο από το κρύο μυϊκό τρόμο και τη θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο (19). Έτσι όταν κατά την έκθεση στο κρύο η θερμοκρασία του ανθρώπινου σώματος πέφτει κάτω από 37 ºC, αρχίζουν να λειτουργούν τόσο οι μηχανισμοί διατήρησης της θερμότητας όπως είναι η περιφερική αγγειοσύσπαση, όσο και οι μηχανισμοί θερμογένεσης (ρίγος, θερμογένεση χωρίς ρίγος μέσω της διέγερσης του συμπαθητικού συστήματος) που έχουν ως σκοπό την αύξηση του μεταβολικού ρυθμού και συνεπώς την παραγωγή θερμότητας.

Φαίνεται σύμφωνα με μελέτες σε πειραματόζωα, ότι κατά την απότομη έκθεση στο κρύο έχουμε αυξημένο μυϊκό τρόμο, ενώ για τη θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο (non-shivering thermogenesis) ευθύνεται ο BAT η δράση του οποίου εμφανίζεται μετά από παρατεταμένη έκθεση στο κρύο (διαδικασία εγκλιματισμού) (20).

Η έκθεση στο κρύο αυξάνει την έκφραση της UCP1 και άλλων γονιδίων που προάγουν την δημιουργία νέων μιτοχονδρίων με αποτέλεσμα την αύξηση της θερμογενετικής ικανότητας του BAT (21).

Τέλος παρατηρείται ότι η εκτεταμένη έκθεση ποντικιών στο κρύο οδηγεί σε υπερπλασία (22) της μάζας του φαιού λίπους καθώς και στην ύπαρξη κυττάρων που μοιάζουν με φαιά λιποκύτταρα μέσα στη μάζα του λευκού λίπους (23) όπως θα αναλυθεί εκτενέστερα παρακάτω.

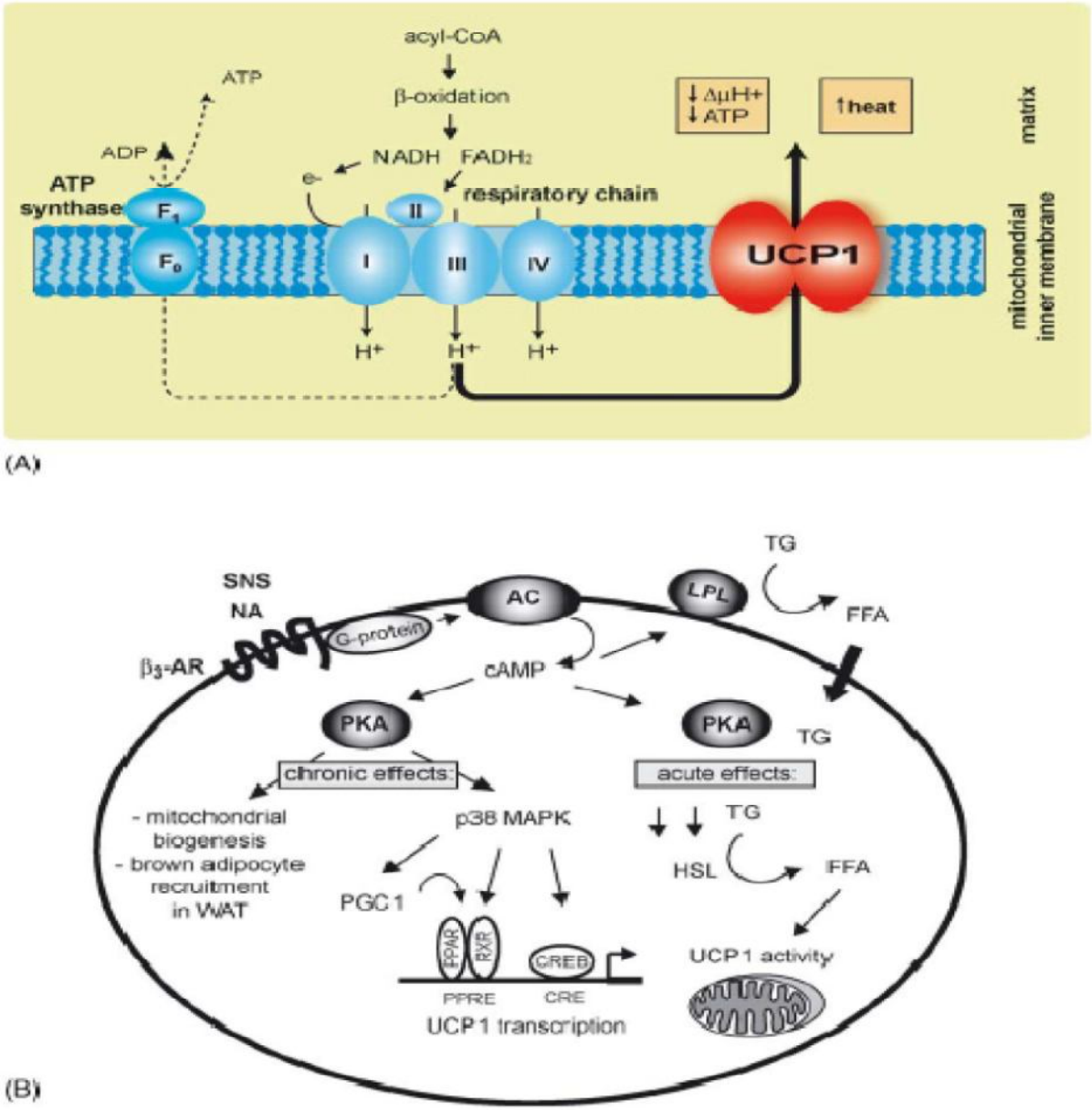
2.1.2 Η θερμογένεση στο φαιά λιποκύτταρα και η δράση της UCP1

Τα τυπικά φαιά λιπώδη κύτταρα χαρακτηρίζονται από μεγάλο βαθμό αγγειοβρίθειας, αποτελούνται από πολλά και μικρά κυταροπλασματικά "σταγονίδια" λίπους καθώς επίσης και από πολλά και μεγάλα μιτοχόνδρια τα οποία έχουν πολλές αναδιπλώσεις και προάγουν την θερμογένεση έναντι της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (5). Τα φαιά λιποκύτταρα ενεργοποιούνται από ίνες του συμπαθητικού νευρικού συστήματος οι οποίες δρουν επάνω στους β3-αδρενεργικούς υποδοχείς (β3-AR) (5).

Τα παραπάνω χαρακτηριστικά είναι αυτά που δίνουν την ιδιότητα στα φαιά λιποκύτταρα να παράγουν θερμότητα. Όταν η πτώση της θερμοκρασίας γίνεται αντιληπτή από την προοπτική περιοχή (POA Preoptic Area) του εγκεφάλου, οι νευρικές ώσεις μεταδίδονται στον υποθάλαμο (μεσονωτιαίος υποθαλαμικός πυρήνας, DMH-Dorsomedial Hypothalamus). Στη συνέχεια οι ώσεις μεταδίδονται στο στέλεχος του εγκεφάλου όπου διεγείρουν τις ίνες του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Οι ίνες του συμπαθητικού νευρικού συστήματος εκκρίνουν νορεπινεφρίνη (NE) η οποία συνδέεται με τους β3-αδρενεργικούς υποδοχείς που βρίσκονται στον BAT (24), (25). Η σύνδεση της νορεπινεφρίνης στους β3-AR πυροδοτεί έναν καταρράκτη αντιδράσεων που περιλαμβάνει το ενδοκυτταρικό αδενοσίνο-μονοφωσφορικό οξύ (cAMP) και την πρωτεϊνική κινάση Α (Protein Kinase A PKA). Η PKA φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί την ορμονοευαίσθητη λιπάση (Hormone Sensitive Lipase HLS) η οποία διασπά τις τριακυλογλυκερόλες που βρίσκονται στα σταγονίδια λίπους του BAT σε ελευθέρα λιπαρά οξέα τα οποία χρησιμοποιούνται από τα μιτοχόνδρια προκειμένου να παραχθεί θερμότητα. Ακόμη η PKA αυξάνει την έκφραση της UCP1 στα φαιά λιποκύτταρα (24). Ταυτόχρονα διεγείρεται και η λιποπρωτεϊνική λιπάση (Lipoprotein lipase LPL) η οποία διασπά εξωκυττάρια τις λιποπρωτεΐνες που είναι πλούσιες σε τριακυλογλυκερόλες (Triacylglycerol – rich lipoproteins TRLs) και ελευθερώνει λιπαρά οξέα τα οποία προσλαμβάνονται από τα κύτταρα του BAT (Εικόνα 1) (26).

Συνεχίζοντας σε επίπεδο μιτοχονδρίου του φαιού λιπώδους ιστού, η παραγωγή θερμότητας γίνεται όπως ήδη αναφέρθηκε από την πρωτεΐνη UCP1 κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Αυτή η πρωτεΐνη είναι απαραίτητη για να παρουσιαστεί γένεση θερμότητας χωρίς μυϊκό τρόμο και εντοπίζεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Οι μεταφορείς ηλεκτρονίων NADH και $FADH_2$ που παράγονται από την οξείδωση των λιπαρών οξέων και το μεταβολισμό της γλυκόζης επανοξειδώνονται από ενζυμικά συμπλέγματα της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (αναπνευστική αλυσίδα) που βρίσκονται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Καθόσον τα ηλεκτρόνια ελευθερώνονται από τους μεταφορείς ηλεκτρονίων μετακινούνται στην αναπνευστική αλυσίδα. Τότε αντλούνται πρωτόνια από τα

μιτοχόνδρια και μετακινούνται στο διαμεμβρανικό χώρο με αποτέλεσμα την παραγωγή ηλεκτροχημικής βαθμίδωσης κατά μήκος της εσωτερικής μεμβράνης (Εικόνα 1). Στους περισσότερους ιστούς η ενέργεια που προέρχεται από την κίνηση των πρωτονίων χρησιμοποιείται για την μετατροπή του αδενοσινο-διφωσφορικού οξέος (ADP) σε αδενοσινοτριφωσφορικό οξύ (ATP) με τη βοήθεια ενός ενζυμικού συμπλέγματος που διαταράσσει την ηλεκτροχημική βαθμίδωση αντλώντας τα πρωτόνια πίσω στο μιτοχονδριακό σύστημα. Στα φαιά λιποκύτταρα η θερμογενίνη παρέχει εναλλακτικό τρόπο επαναφοράς στο μιτοχονδριακό στρώμα των πρωτονίων με την αποσύνδεση (uncoupling) της οξείδωσης των υποστρωμάτων των μιτοχονδρίων από τη σύνθεση του αδενοσινοτριφωσφορικού οξέος. Η αυξημένη οξείδωση υποστρωμάτων που επιταχύνεται χωρίς τον περιορισμό της ATPάσης (χαμηλός ρυθμός παραγωγής ATP), σε συνδυασμό με την αυξημένη διαρροή πρωτονίων κατά μήκος της εσωτερικής μεμβράνης που μεσολαβείται από τη θερμογενίνη οδηγεί σε απώλεια ενέργειας με τη μορφή θερμότητας και κατά συνέπεια σε θερμογένεση (χωρίς μυϊκό τρόμο) (26), (27).

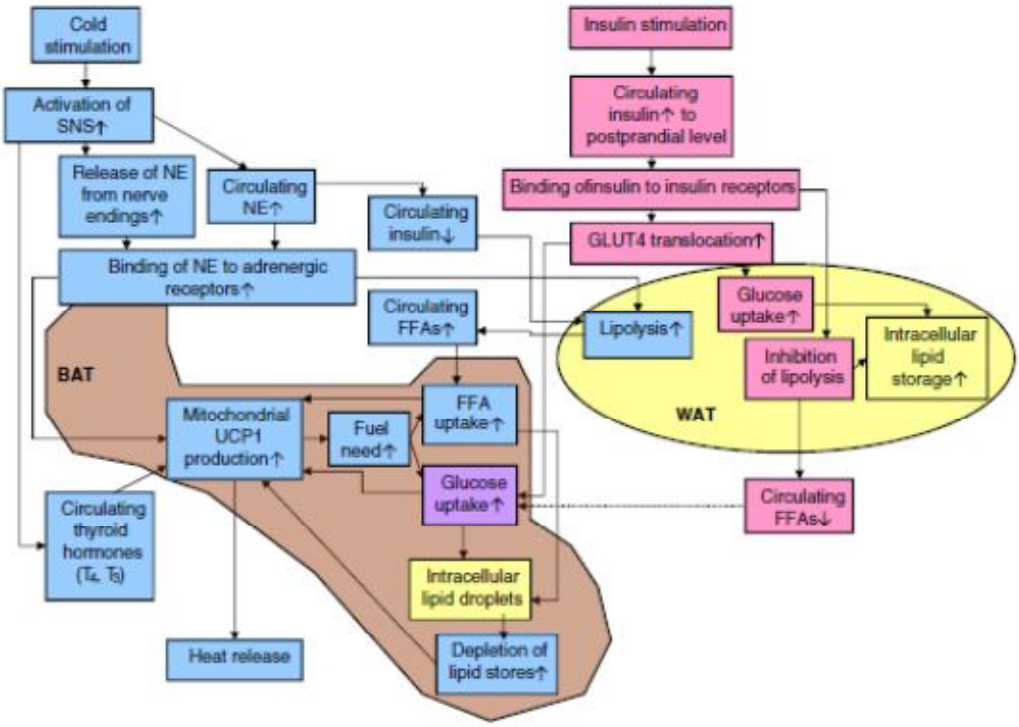


Εικόνα 1: (A) Η UCP-1 εντοπίζεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, όπου αποσυνδέει την οξείδωση των υποστρωμάτων από τη σύνθεση ATP, με αποτέλεσμα την απώλεια ενέργειας με μορφή θερμότητας. (B) Η κατανάλωση ενέργειας μέσω θερμογένεσης στο φαιό λιπώδη ιστό ρυθμίζεται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα (SNS) με απελευθέρωση νοραδρεναλίνης (NA). Η αυξημένη δραστηριότητα του συμπαθητικού οδηγεί σε ενεργοποίηση του β3-AR (αδρενεργικού υποδοχέα), αυξημένη παραγωγή cAMP και ενεργοποίηση της PKA. Επιπλέον, η λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL) διεγείρεται για να αυξήσει την πρόσληψη λιπαρών οξέων από το κύτταρο. Η ενεργοποίηση της PKA έχει άμεση δράση στη λιπόλυση και αυξάνει τη διαθεσιμότητα υποστρωμάτων για θερμογένεση. Η επίδραση της χρόνιας ενεργοποίησης της PKA περιλαμβάνει βιογένεση μιτοχονδρίων, διαφοροποίηση των φαιών λιποκυττάρων και αυξημένη έκφραση UCP-1 **(26)**.

Ακόμη πρέπει να αναφερθεί ότι στη διαδικασία της θερμογένεσης στο BAT, εκτός από το κεντρικό νευρικό σύστημα, σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζουν και οι ορμόνες του θυρεοειδούς αδένα (θυροξίνη T4 και τριιωδοθυρονίνη T3) (28). Οι ορμόνες T3 και T4 εισέρχονται στα κύτταρα του φαιού λιπώδους ιστού. Εκεί η T4 μετατρέπεται σε T3 από το ένζυμο DIO2 (type 2 iodothyronine deiodinase). Στη συνέχεια η T3 οδηγεί στην έκφραση των γονιδίων που προάγουν τη θερμογένεση (αύξηση παραγωγής UCP1) (24), (29).

2.1.3. Η επίδραση της ινσουλίνης στη θερμογένεση στον BAT

Η ινσουλίνη ενεργοποιεί το συμπαθητικό νευρικό σύστημα και έμμεσα αυξάνει τη θερμογένεση στο φαιό λίπος. Επειδή η ινσουλίνη αυξάνεται μεταγευματικά, ενδεχομένως να έχει κάποιο ρόλο και στην τροφογενή θερμογένεση πιθανόν μέσω της δράσης της στο κεντρικό νευρικό σύστημα όπως φαίνεται σε μελέτες που έχουν γίνει σε ποντίκια (30), (31). Η διέγερση μέσω της ινσουλίνης έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη πρόσληψη γλυκόζης από τον BAT και αυξημένη κατανάλωση ενέργειας. Ο BAT φαίνεται να είναι ένας ινσουλινοευαίσθητος ιστός αφού η πρόσληψη της γλυκόζης κατά τη διάκρεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού (Hyperinsulinemic euglycemic clamp), ήταν πενταπλάσια σε σχέση με την κατάσταση νηστείας (32). Το κρύο και η ινσουλίνη επιδρούν διαφορετικά πάνω στο BAT όπως φαίνεται αναλυτικά στην Εικόνα 2 (31).



Εικόνα 2: Η επίδραση διαφορετικών ερεθισμάτων καθώς και ορμονών στη θερμογενετική δραστηριότητα του BAT. Η θερμογενετική δραστηριότητα του BAT κατά την έκθεση στο κρύο

ξεκινά με την ενεργοποίηση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος (SNS) και την απελευθέρωση της νορεπινεφρίνης (NE) από τις νευρικές απολήξεις. Η νορεπινεφρίνη συνδέεται στους αδρενεργικούς υποδοχείς και σε συνδυασμό με την πρόσληψη των ορμονών του θυρεοειδούς αδένα, πυροδοτεί την αυξημένη έκφραση της UCP1 στα μιτοχόνδρια. Η παραγωγή της UCP1 στο BAT ακολουθείται από αυξημένη ζήτηση σε λιπαρά οξέα ελεύθερα λιπαρά οξέα και γλυκόζη για την μιτοχονδριακή θερμογένεση. Προκειμένου να ικανοποιηθούν αυτές οι ανάγκες στο BAT τόσο ενδοκυτταρικά όσο και σε αποθέματα WAT σε άλλα σημεία του σώματος ελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες λιπαρών οξέων. Η συγκέντρωση της γλυκόζης του αίματος παραμένει σταθερή ενώ η ινσουλίνη μειώνεται. Όταν η συγκέντρωση της ινσουλίνης στο αίμα αυξάνεται μετά από την ευγλυκαιμική υπερινσουλιναιμική δοκιμασία ινσουλινικού αποκλεισμού αυξάνεται η έκφραση του μεταφορέα γλυκόζης GLUT4. Στη συνέχεια αυξάνεται η πρόσληψη γλυκόζης από τους ινσουλινοευαίσθητους ιστούς όπως είναι και ο BAT. Ταυτόχρονα η απελευθέρωση λιπαρών οξέων αναστέλλεται στον WAT το οποίο μπορεί εν μέρει να επηρεάζει την πρόσληψη γλυκόζης από τον BAT μέσω του κύκλου του Randle (31).

2.2. «Φαιοποίηση» του λευκού λιπώδους ιστού και μπεζ λιποκύτταρα

2.2.1. Μπεζ λιποκύτταρα

Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, πειράματα που έγιναν σε ποντίκια έδειξαν ότι μετά από έκθεση στο κρύο ή μετά από χορήγηση β-αδρενεργικών αγωνιστών εμφανίζονται στο λευκό λιπώδη ιστό κύτταρα που εκφράζουν την UCP1 και έχουν τα χαρακτηριστικά των φαιών λιποκυττάρων (33), (34). Τα λιποκύτταρα αυτά ονομάστηκαν μπεζ (beige) (35) (36), αλλά αναφέρονται στη βιβλιογραφία και ως Brite (Brown in whiTE). Η ονομασία αυτή προκύπτει από το γεγονός ότι τα κύτταρα αυτά λειτουργούν σαν φαιό λίπος και εντοπίζονται ανάμεσα στα λευκά λιποκύτταρα (37). Άλλες ονομασίες που έχουν δοθεί σε αυτά τα κύτταρα είναι: ιBAT (induced BAT), recruitable BAT και wBAT (white adipose BAT) (38).

Τα μπεζ λιποκύτταρα εμφανίζουν χαρακτηριστικά τόσο λευκών όσο και κλασικών φαιών λιποκυττάρων. Τα μπεζ λιποκύτταρα χρησιμεύουν σαν αποθήκες ενέργειας όπως τα λευκά λιποκύτταρα. Ωστόσο σε κατάλληλες συνθήκες (έκθεση σε κρύο, χορήγηση β-αδρενεργικών αγωνιστών) αυξάνουν την έκφραση της UCP-1 και παράγουν θερμότητα σε βαθμό παρόμοιο με αυτόν του φαιού λίπους (39), (40).

Η εμβρυική προέλευση των κλασικών φαιών λιποκυττάρων είναι κοινή με αυτή των μυϊκών κυττάρων. Τα μεσεγχυματικά κύτταρα από τα οποία προέρχονται τα κλασικά φαιά λιποκύττατρα εκφράζουν το μεταγραφικό παράγοντα Myf-5 (Myogenic factor 5) (41). Τα κύτταρα αυτά που

εκφράζουν τον Myf-5 (Myf-5+) διαφοροποιούνται σε φαιά λιποκύτταρα μετά την επίδραση του μεταγραφικού παράγοντα PRDM16 (PR Domain zinc finger protein 16) και άλλων μεταγραφικών παραγόντων όπως ο PCG1α, ο FOXC2, ο C/EBPβ, ο Plac8 και το miR-193b-365 (24). Συγκεκριμένα η έκφραση του PRDM16 αυξάνει την διαφοροποίηση των Myf-5+ σε φαιά λιποκύτταρα και μειώνει τη μυογένεση (42). Από την άλλη η εμβρυική προέλευση των κυττάρων του μπεζ λιπώδους ιστού δεν είναι ξεκάθαρη. Τα πρόδρομα κύτταρα των μπεζ και των λευκών λιποκυττάρων δεν είναι ίδια με αυτά των κλασικών φαιών λιποκυττάρων και δεν εκδηλώνουν τον παράγοντα Myf-5 (Myf-5-). Σύμφωνα με τον Jun Wu, φαίνεται ότι τα μπεζ λιποκύτταρα έχουν κοινή προέλευση με τα λευκά λιποκύτταρα (36) ωστόσο υπάρχουν ερευνητές που έχουν διαφορετική άποψη, γι' αυτό απαιτείται περαιτέρω έρευνα (23). Ο PRDM16 φαίνεται ότι συμβάλει και στη φαιοποίηση των λευκών λιποκυττάρων (43).

Στο ερώτημα από πού προέρχονται τα μπεζ λιποκύτταρα δεν υπάρχει σαφής απάντηση και απαιτείται και εδώ περαιτέρω έρευνα. Ένας τρόπος δημιουργίας τους θεωρείται ότι είναι η μεταδιαφοροποίηση (transdifferentiation) των ώριμων λευκών λιποκυττάρων σε μπεζ κάτω από ορισμένες συνθήκες οι οποίες αναφέρθηκαν και πιο πάνω. Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή τα λευκά λιποκύτταρα αλλάζουν φαινότυπο και μοιάζουν πιο πολύ με τα φαιά, ενώ όταν επέλθει η επίδραση των ειδικών συνθηκών μετατρέπονται πάλι σε λευκά (33). Ωστόσο υπάρχει και η θεωρία της "εκ νέου διαφοροποίησης" (de novo differentiation). Κατά τη θεωρία αυτή όταν απαιτείται έχουμε την διαφοροποίηση πρόδρομων μπεζ λιποκυττάρων (διαφορετικά πρόδρομα λιποκύτταρα από αυτά των λευκών λποκυτάρων) σε ώριμα μπεζ λιποκύτταρα (44).

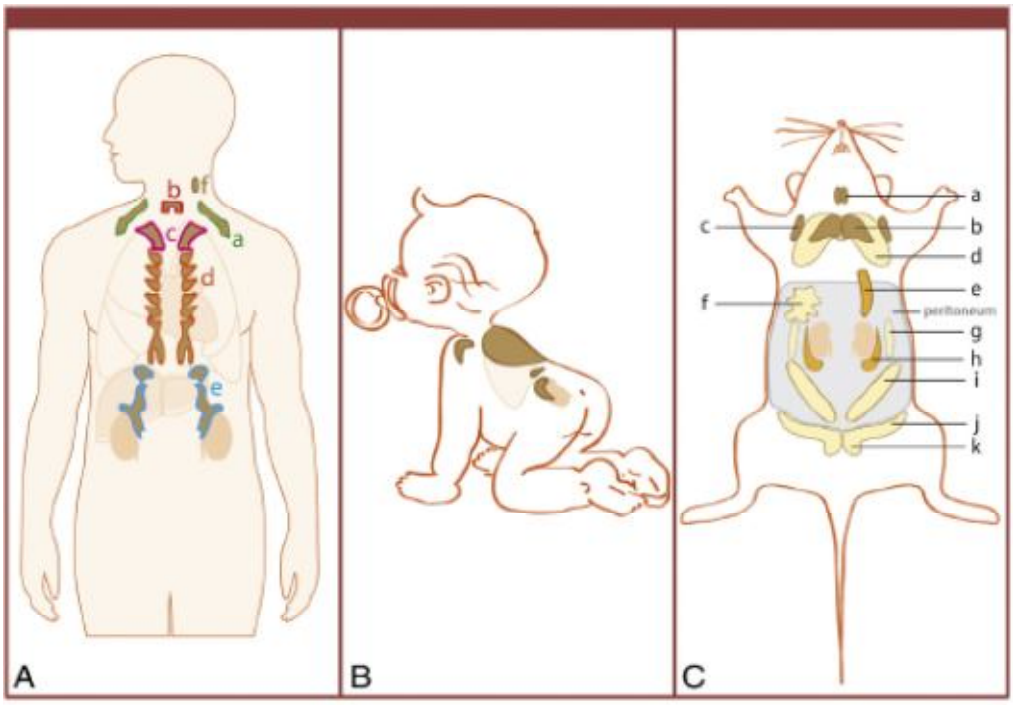
2.2.2. Παράγοντες φαιοποίησης του λευκού λιπώδους ιστού

Η φαιοποίηση του λευκού λίπους, δηλαδή η εμφάνιση των μπεζ λιποκυττάρων φαίνεται ότι προστατεύει τα ποντίκια όχι μόνο από το κρύο αλλά και από την παχυσαρκία (45). Επίσης στα ποντίκια φαίνεται ότι βελτιώνει την πρόσληψη της γλυκόζης από τους ιστούς μετά τη χορήγηση γεύματος υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος (43), (24).

Τα παραπάνω συμπεράσματα καθώς και το γεγονός ότι τα αποθέματα φαιού λίπους που παρατηρήθηκαν στους ανθρώπους φάνηκαν να αποτελούνται από μπεζ και όχι από τα κλασικά φαιά λιποκύτταρα (όπως συμβαίνει στα νεογνά και στα ποντίκια) (46) έστρεψε το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας στο πως μπορεί να αυξηθεί η φαιοποίηση του λευκού λίπους. Ωστόσο σε μια μελέτη στην οποία πήρανε δείγματα λιπώδους ιστού από την περιοχή του αυχένα ενηλίκων εθελοντών τόσο από επιφανειακά όσο και από πιο βαθιά στρώματα, φάνηκε ότι μερικοί από τους εθελοντές, εκτός από τα μπεζ λιποκυττάρα (επιφανειακά στρώματα βιοψιών), εμφάνισαν και κύτταρα με χαρακτηριστικά φαιών λιποκυττάρων (βαθιά στρώματα) (47).

Συνεπώς απαιτείται περαιτέρω έρευνα πάνω στο συγκεκριμένο θέμα και για το λόγο αυτό στην παρούσα εργασία όπου αναφέρεται φαιός λιπώδης ιστός (BAT) σε ενήλικες εννοούνται και τα μπεζ λιποκύτταρα.

Παρακάτω στην Εικόνα 3 απεικονίζονται τα σημεία όπου παρατηρούνται θερμογενετικά λιπώδη κύτταρα στους ενήλικες, στα νεογνά και στα ποντίκια. Στους ενήλικες θερμογενετικά λιπώδη κύτταρα εντοπίζονται κυρίως στον αυχένα και στις υπερκλείδιες περιοχές ενώ στο μεσοθώρακα και στην περιοχή γύρω από τα επινεφρίδια υπάρχουν σε μικρότερο ποσοστό (48) όπως φάνηκε με την τεχνική της τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων με χρήση ιχνηθετημένης γλυκόζης (18F-Fluoro-Deoxy-Glucose Positron Emission Tomography, 18F- FDG PET) σε συνδυασμό με αξονική τομογραφία (Computed Tomography, CT).



Εικόνα 3: Τα αποθέματα λιπώδους ιστού σε ανθρώπους και ζώα. **Α)** θέσεις του θερμογενετικού λιπώδους ιστού στους ανθρώπους: α) υπερκλειδικά β) θυρεοειδής/τραχεία γ) μεσοθωράκιο (παραορτικά) δ) παρασπονδυλικά ε) υπερ- και περι-νεφρικά στ) τραχηλικά **Β)** Στα βρέφη: ο ενδοωμοπλατιαίος BAT ελαττώνεται με την ηλικία (με βάση νεκροτομικές μελέτες) **Γ)** στα ποντίκια: α) τραχηλικά, β) ενδοωμοπλατιαία γ) μασχαλιαία (α-γ: αντιπροσωπεύουν κλασικό BAT από την υποδορια περιοχή) δ) πρόσθιος υποδόριος WAT ε) μεσοθωρακικός(περιέχει WAT και κλασικό BAT στ) μεσεντέριος ζ) οπισθοπεριτοναικός η) περινεφρικός (περιέχει WAT και κλασικό BAT) θ) περιγοναδικός (επιδιδυμίδα/παραωοθηκικά/παραμητρικά) ι) ραχιαιοοσφυικά και βουβωνικά κ) γλουτιαία δε φαίνεται περικαρδικό και επιπλοϊκό λίπος. (23).

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που συμβάλλουν τόσο στην ενεργοποίηση των μπεζ λιποκυττάρων όσο και στην ενεργοποίηση των κλασικών φαιών λιποκυττάρων. Οι παράγοντες αυτοί αποτελούν στόχο και πεδίο έρευνας με απώτερο σκοπό την αύξηση της ενεργοποίησης του φαιού λίπους. Εκτός από την έκθεση στο κρύο και την επίδραση των ορμονών του θυρεοειδούς αδένα που ήδη αναφέρθηκαν πιο πάνω, άλλοι παράγοντες είναι η ιρισίνη (FNDC5/irisin), το κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο (Atrial Natriuretic Peptide- ANP), ο ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας 21(Fibroblast Growth Factor 21-FGF21), το νευροπεπτίδιο ορεξίνη καθώς και διάφοροι αυτοκρινείς και παρακρινείς παράγοντες όπως η οστική μορφογενετική πρωτεΐνη 8B (Bone morphogenetic protein 8B, BMP8B) και η ομόλογη της BMP-7 (Bone morphogenic protein-7) καθώς και ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας VEGF (Vascular Endothelial. Growth Factor,VEGF) (38).

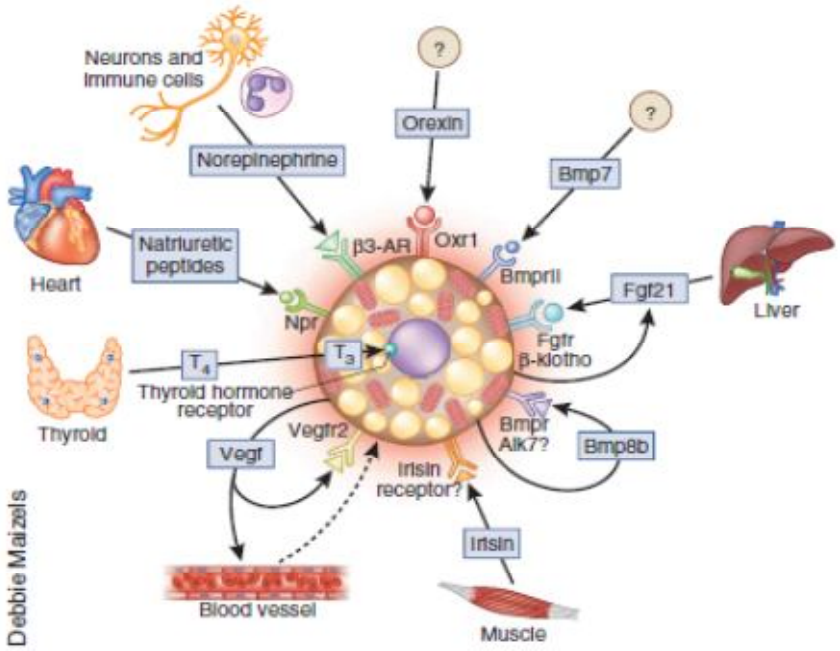
Πιο αναλυτικά η **ιρισίνη** είναι μια ορμόνη που παράγεται και εκκρίνεται από το μυϊκό ιστό ύστερα από υδρόλυση της μεμβρανικής πρωτεΐνης FNDC5 (Fibronectin Type III Domain Containing 5) των μυϊκών κυττάρων και εκκρίνεται μετά από άσκηση. Η άσκηση αυξάνει την έκκριση της ιρισίνης και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της φαιοποίησης του λευκού λιπώδους ιστού (49).

Ο παράγοντας **FGF21** είναι μια ορμόνη η οποία όταν εκφράζεται σε ποντίκια τα προστατεύει από την παχυσαρκία, ενώ ταυτόχρονα συμβάλει στην μείωση της ινσουλινοαντίστασης και στην μείωση των λιπιδίων στο αίμα (50). Ο FGF21 εκκρίνεται από το ήπαρ αλλά και τοπικά από τα λιποκύτταρα μετά από έκθεση στο κρύο και έχει φανεί ότι συμβάλει στη θερμογένεση τόσο από τον BAT όσο και από τον WAT (51).

Το **κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο** συντίθεται στα κύτταρα του τοιχώματος των κόλπων της καρδίας μετά από διάτασή τους. Η κύρια δράση του είναι η ελάττωση του όγκου του αίματος και συνεπώς η μείωση της αρτηριακής πίεσης. Αναφορικά με το λιπώδη ιστό, πειράματα σε ποντίκια που τους χορηγήθηκε ο εν λόγω παράγοντας, έδειξαν αύξηση της έκφρασης της UCP1 τόσο στο BAT όσο και στον WAT και ταυτόχρονα παρατηρήθηκε αύξηση του μεταβολισμού (52).

Τέλος ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) που είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες αγγειογένεσης, εκφράζεται στον BAT και η έκφραση του ενεργοποιείται από την έκθεση στο κρύο (5). Η πρωτεΐνη **BMP8B** παράγεται από τα ώριμα φαιά λιποκύτταρα και φαίνεται να αυξάνει την θερμογένεση που προκαλείται μετά από τη διέγερση του συμπαθητικού (53). Το νευροπεπτίδιο **ορεξίνη**, και η πρωτεΐνη **BMP7** φαίνεται να εμπλέκονται στη θερμογένεση από τον BAT όπως φαίνεται πιο κάτω στη εικόνα 4 (38). Οι

παραπάνω παράγοντες έχουν μελετηθεί εκτενώς στα πειραματόζωα. Στους ανθρώπους οι αντίστοιχοι παράγοντες ενεργοποίησης του BAT και φαιοποίησης του WAT δεν έχουν ακόμη μελετηθεί εκτενώς και ενδέχεται να εμφανίζουν διαφορετική δράση από αυτή που παρατηρείται στα πειραματόζωα.



Εικόνα 4: Εκκριτικοί παράγοντες που στρατολογούν φαιά λιποκύτταρα, μπεζ, ή και τα δύο. Στα τρωκτικά έχουν βρεθεί ιστοί και κύτταρα που ρυθμίζουν τη δραστηριότητά τους με συστηματικούς, αυτοκρινείς ή παρακρινείς μηχανισμούς. Οι νευρώνες και εναλλακτικά τα ενεργοποιημένα μακροφάγα εκκρίνουν νορεπινεφρίνη. Ο καρδιακός ιστός εκκρίνει νατριουρητικό πεπτίδιο, το ήπαρ και ο BAT FGF21, ο μυϊκός ιστός ιρισίνη και ο θυρεοειδης T4 (που στη συνέχεια μετατρέπεται σε T3). Ο BAT επίσης παράγει BMP8B και VEGF, που αυξάνουν τη θερμογενετική λειτουργία με αυτοκρινή τρόπο. Επιπρόσθετα, ορεξίνη και BMP7 προάγουν την ανάπτυξη του λίπους, αλλά είναι άγνωστη η κυτταρική τους προέλευση (38).

2.3. BAT και ενήλικες

2.3.1. Ο επιπολασμός του BAT στους ενήλικες

Ο επιπολασμός του BAT στον ενήλικο πληθυσμό φαίνεται να διαφέρει από 2% έως και σχεδόν 100% ανάλογα με το είδος της μελέτης που έχει διεξαχθεί (48). Έτσι στις αναδρομικές μελέτες το ποσοστό των ενηλίκων που εμφανίζουν φαιό λίπος είναι πολύ μικρό (2-7%) και ο λόγος φαίνεται να είναι το γεγονός ότι πολλές μετρήσεις έγιναν σε θερμοουδέτερες συνθήκες και κατόπιν νηστείας. Από την άλλη σε κλινικές μελέτες που διεξάγονται και έχουν ως στόχο να μελετήσουν τον BAT το ποσοστό εμφάνισης είναι πολύ μεγάλο (30-100%). Σχεδόν πάνω από το

90% των εθελοντών εμφανίζουν φαιό λίπος παρόλο που σε μερικούς εθελοντές η εξέταση σε ποζιτρονικό / αξονικό τομογράφο (*PET*/*CT*) με τη χρήση φθοριωμένης γλυκόζης (18F-FDG) είναι αρνητική, ενώ οι βιοψίες θετικές (54), (9).

Ο επιπολασμός, η μάζα καθώς και η πρόσληψη της φθοριωμένης γλυκόζης (18F-FDG) από τον BAT επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες όπως είναι η ηλικία, το φύλο, η θερμοκρασία του περιβάλλοντος και η ύπαρξη ή όχι παχυσαρκίας (55). Οι παράγοντες αυτοί θα συζητηθούν στην επόμενη ενότητα.

Η μεγάλη απόκλιση στον επιπολασμό του φαιού λίπους στους ενήλικες, οφείλεται σε πολλούς παράγοντες όπως αναφέρθηκαν και πιο πάνω (φύλο, ηλικία, ύπαρξη παχυσαρκίας, θερμοκρασία περιβάλλοντος, χορήγηση αδρενεργικών αγωνιστών) αλλά πιθανόν να οφείλεται και στην εξέταση 18F-FDG PET/CT. Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω μπορεί η PET/CT να είναι αρνητική, ενώ οι βιοψίες να εμφανίζουν κύτταρα με χαρακτηριστικά φαιού λίπους (54) (56). Επίσης φαίνεται ότι κατά την επανάληψη της αυτή η εξέταση δείχνει διαφορετικά αποτελέσματα σχετικά με το αν υπάρχει ή όχι φαιό λίπος (56).

Η 18F-FDG PET/CT είναι προς το παρόν η μόνη μη επεμβατική μέθοδος εκτίμησης της παρουσίας καθώς και της ενεργοποίησης του BAT. Το υψηλό κόστος της καθώς και η ακτινοβολία που λαμβάνει ο εθελοντής κατά την εξέταση, είναι οι λόγοι που δεν μπορεί η εν λόγω εξέταση να χρησιμοποιηθεί κατ' επανάληψη και ιδιαίτερα σε υγιείς εθελοντές. Προκύπτει λοιπόν η ανάγκη να βρεθούν νέες μη επεμβατικές μέθοδοι εκτίμησης του επιπολασμού του BAT αλλά και της ενεργοποίησής του (57).

2.3.2. Παράγοντες που συσχετίζονται με την εμφάνιση του BAT στους ενήλικες

Η επίδραση της έκθεσης στο κρύο ή η αδρενεργική ενεργοποίηση του BAT δεν έχει την ίδια επίδραση σε όλους τους εθελοντές.

Οι γυναίκες φαίνεται να εμφανίζουν πιο συχνά ενεργοποιημένο BAT σε σχέση με τους άνδρες σύμφωνα με αναδρομικές μελέτες (4), (58). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι οι γυναίκες αντιλαμβάνονται το κρύο σε υψηλότερες θερμοκρασίες σε σχέση με τους άνδρες (48). Ακόμη σε μελέτες που έγιναν σε ποντίκια έδειξαν ότι οι ορμόνες του φύλου (ανδρογόνα, οιστρογόνα και προγεστερόνη) επηρεάζουν τον μεταβολισμό των φαιών λιποκυττάρων (59). Ένας άλλος παράγοντας που συσχετίζεται με τον επιπολασμό του BAT είναι η ηλικία. Πολλές μελέτες αναφέρουν μείωση της εμφάνισης του BAT καθώς αυξάνει η ηλικία (55), (56) , (60). Η μείωση αυτή μπορεί να οφείλεται στη μείωση της ποσότητας των αποθεμάτων του BAT παρά στη μείωση της δραστηριότητάς του. Αρχικά παρατηρείται μείωση κατά την ενηλικίωση και στη

συνέχεια παρατηρείται κι άλλη μείωση μετά την ηλικία των 80 ετών (61). Τέλος υπάρχει μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ύπαρξης του BAT και του δείκτη μάζας σώματος (4), (10), (19), (58). Δηλαδή οι πιο αδύνατοι εθελοντές εμφανίζουν πιο συχνά ενεργό BAT σε σχέση με αυτούς που εμφανίζουν πιο αυξημένο BMI ή και πιο αυξημένο ολικό και σπλαχνικό λίπος (10). Συνεπώς αν κάποιος είναι νεαρός σε ηλικία και έχει φυσιολογικό BMI έχει περισσότερες πιθανότητες να εμφανίζει ενεργό BAT.

2.3.3. Έκθεση στο κρύο και μεταβολική δραστηριότητα του BAT

Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω ο πιο εύκολος φυσικός και οικονομικός τρόπος ενεργοποίησης του BAT είναι η έκθεση στο κρύο. Ωστόσο ο ρόλος του BAT στη συνολική διαδικασία της θερμογένεσης στο σώμα δεν είναι ξεκάθαρος. Σε μια πιο παλιά μελέτη πριν την εντόπιση του φαιού λίπους στους ενήλικές, η έκθεση στο κρύο και συγκεκριμένα στους 5ºC για 3 ώρες έδειξε ότι αυξάνει το μεταβολικό ρυθμό ηρεμίας, αυξάνει τη λιπόλυση και βελτιώνει την κυκλοφορία των λιπαρών οξέων στο αίμα (62). Στη μελέτη αυτή όμως η θερμοκρασία της έκθεσης ήταν πολύ χαμηλή και υπήρχε και μυϊκός τρόμος.

Σε αρκετές μεταγενέστερες μελέτες με έκθεση στο κρύο φαίνεται να αυξάνει ο βασικός μεταβολισμός και η αύξηση αυτή συσχετίζεται με την ύπαρξη φαιού λίπους. (9), (10), (32), (63), (64), (65). Ο van Marken Lichtenbelt έδειξε ότι η ήπια έκθεση στο κρύο (16 ºC) αυξάνει το βασικό μεταβολισμό. Στη συγκεκριμένη μελέτη οι εθελοντές εκτέθηκαν στους 16 ºC δύο φορές και για 60 ώρες κάθε φορά ενώ παρέμειναν και για άλλες 60 ώρες σε θερμοκρασία 22 ºC. Από την εν λόγω μελέτη φάνηκε ότι υπάρχουν ατομικές διαφορές σχετικά με την αντίδραση κατά την έκθεση στο κρύο και ότι υπήρχε σημαντική μείωση στη θερμοκρασία του σώματος τόσο στον πυρήνα όσο και στο δέρμα (16). Το 2009 ο ίδιος ερευνητής εξέθεσε μια ομάδα εθελοντών στο κρύο 16 ºC για δύο ώρες και παρατήρησε ότι ο βασικός μεταβολισμός σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τη δραστηριότητα του φαιού λίπους τόσο κατά την έκθεση στο κρύο όσο και στις θερμοουδέτερες συνθήκες (22 ºC). Η αύξηση του βασικού μεταβολισμού στη μελέτη αυτή κατά την έκθεση στο κρύο ήταν περίπου 15%. Ακόμη η θερμοκρασία του δέρματος έπεσε κατά την έκθεση στο κρύο, ενώ η θερμοκρασία του πυρήνα είχε μια ήπια αύξηση. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν τον πιθανό ρόλο της ενεργοποίησης φαιού λίπους προκειμένου να διατηρηθεί η θερμότητα στον πυρήνα του σώματος κατά την έκθεση στο κρύο (9).

Μια άλλη ερευνητική ομάδα, θέλοντας να πλησιάσουν πιο πολύ το εύρος των θερμοκρασιών στους χώρους που ζει και εργάζεται ο σύγχρονος άνθρωπος, διεξήγαγε δύο δοκιμές κατά τις οποίες 25 εθελοντές εκτέθηκαν για 12 ώρες πρώτα στους 24 ºC και στη συνέχεια στους 19ºC. Προκειμένου να περιορίσουν το ρίγος γινόταν καταγραφή της μυϊκής δραστηριότητας σε όλη τη

διάρκεια των δοκιμών. Φάνηκε λοιπόν ότι μια ήπια πτώση της θερμοκρασίας κατά 5ºC είναι ικανή να αυξήσει το μεταβολισμό κατά 6% χωρίς να υπάρχει διάφορα μεταξύ στους άνδρες και στις γυναίκες. Στη μελέτη αύτη δεν υπήρχε μυϊκός τρόμος, υπήρχε μείωση της θερμοκρασίας του δέρματος, αλλά η θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος παρέμεινε σταθερή (66). Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξε και μια άλλη έρευνα κατά την οποία οι εθελοντές εκτέθηκαν σε θερμοκρασία19 ºC για 12 ώρες κατά τη διάρκεια της νύχτας και παρατηρήθηκε αύξηση του μεταβολισμού περίπου κατά 6%. Στις γυναίκες παρατηρήθηκε μεγαλύτερη αύξηση του μεταβολισμού από ότι τους άνδρες (67). Ο Yoneshiro και οι συνεργάτες του εξέθεσαν στο κρύο (19ºC για δύο ώρες και κατά διαστήματα τοποθέτηση των ποδιών σε πάγο) εθελοντές που είχαν ενεργοποιημένο φαιό λίπος και εθελοντές που δεν είχαν. Το αποτέλεσμα ήταν ότι οι εθελοντές που είχαν BAT εμφάνισαν σημαντική αύξηση του μεταβολισμού τους κατά 28% ενώ σε αυτούς που δεν είχαν παρατηρήθηκε μια πολύ μικρή αύξηση του μεταβολισμού τους μη στατιστικά σημαντική. Ακόμη παρατηρήθηκε ότι η πτώση της θερμοκρασίας του δέρματος ήταν παρόμοια και στις δύο ομάδες εκτός από τη θερμοκρασία στην υπερκλείδια περιοχή που φάνηκε να μειώνεται λιγότερο στην ομάδα που εμφάνιζαν BAT (68). Σε μία άλλη μελέτη εφαρμόστηκε εξατομικευμένο πρωτόκολλο έκθεσης στο κρύο (χωρίς την ύπαρξη μυϊκού τρόμου) σε 15 παχύσαρκους εθελοντές για πέντε ώρες. Όταν τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης συγκρίθηκαν με τα δεδομένα μιας προηγούμενης μελέτης, φάνηκε ότι τα άτομα που εμφάνιζαν ενεργοποιημένο φαιό λίπος είχαν αυξημένο βασικό μεταβολισμό στατιστικά σημαντικό σε σύγκριση με αυτούς που δεν εμφάνιζαν ενεργοποιημένο φαιό λίπος (65). Στην ίδια μελέτη κατά την έκθεση στο κρύο η θερμοκρασία του δέρματος έπεσε ενώ η θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά. Αντίθετα σε μια άλλη μελέτη στην οποία υπήρχαν δύο ομάδες(η μια με ενεργοποιημένο φαιό λίπος ενώ η άλλη όχι) φάνηκε ότι ή ομάδα που δεν εμφάνιζε ενεργοποιημένο φαιό λίπος είχε υψηλότερο βασικό μεταβολισμό. Αυτό οφειλόταν στο γεγονός ότι η ομάδα με το ενεργοποιημένο φαιό λίπος αποτελούνταν μόνο από γυναίκες. Ωστόσο όταν αφαιρέθηκαν οι άνδρες από την ομάδα με την μειωμένη δραστηριότητα φαιού λίπους, οι δύο ομάδες δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά στον βασικό μεταβολισμό. Εν τούτοις κάθε άτομο που ανήκε στην ομάδα με αυξημένο φαιό λίπος αύξησε το βασικό του μεταβολισμό κατά 24±11% μέσο όρο (64). Φαίνεται τελικά ότι ο BAT έχει κάποιο ρόλο στην θερμογένεση χωρίς ρίγος και στους ενήλικες ανθρώπους όπως συμβαίνει στα πειραματόζωα (63).

Τα ποντίκια όταν εκτίθενται παρατεταμένα στο κρύο (ψυχρός εγκλιματισμός) παρατηρείται υπερπλασία του BAT καθώς και φαιοποίηση του WAT. Στους ανθρώπους δεν είναι ξεκάθαρο αν συμβαίνει κάτι παρόμοιο. Ωστόσο σε μια πρόσφατη μελέτη επιχειρήθηκε να γίνει ψυχρός

εγκλιματισμός για 10 ημέρες. Οι εθελοντές εκτίθονταν σε θερμοκρασία 15-16 ºC για 2 ώρες την πρώτη μέρα, 4 τη δεύτερη μέρα και 6 ώρες για όλες τις υπόλοιπες μέρες. Παρατήρησαν ότι αυξήθηκε ο βασικός μεταβολισμός καθώς και η θερμογένεση χωρίς ρίγος (Non Shivering Thermogenesis). Επίσης δεν παρατηρήθηκε φαιοποίηση του WAT όπως φάνηκε από τις βιοψίες στην περιοχή της κοιλιάς. Μετά τον εγκλιματισμό οι εθελοντές έκριναν το περιβάλλον όπου διεξάγονταν η δοκιμασία ότι ήταν πιο ζεστό και πιο άνετο σε σχέση με την αρχή της μελέτης καθώς επίσης και ότι εμφάνιζαν λιγότερο μυϊκό τρόμο (69). Το γεγονός ότι οι άνθρωποι έχουν την ικανότητα εγκλιματισμού σε ψυχρό περιβάλλον, φάνηκε και από μια άλλη μελέτη κατά την οποία έγινε έκθεση των εθελοντών στο κρύο (στους 15 ºC για 3 ώρες) στο τέλος του χειμώνα και στο τέλος του καλοκαιριού. Φάνηκε ότι ο μεταβολισμός ήταν αυξημένος κατά τη διάρκεια του χειμώνα σε σχέση με το καλοκαίρι (70). Ωστόσο και εδώ παρατηρήθηκε εξατομικευμένη αντίδραση στο κρύο. Ο ίδιος ερευνητής σε μια άλλη μελέτη εξέτασε την αντίδραση στο κρύο τόσο σε υπέρβαρους όσο και σε εθελοντές με φυσιολογικό βάρος. Οι εθελοντές εκτέθηκαν στους 15 ºC για 1 ώρα και στη συνέχεια αναθερμάνθηκαν για άλλη 1 ώρα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι εθελοντές με φυσιολογικό βάρος είχαν πιο αυξημένο μεταβολικό ρυθμό σε σχέση με τους υπέρβαρους και ότι κατά την αναθέρμανση τους οι αδύνατοι συνέχιζαν να εμφανίζουν αυξημένο μεταβολισμό. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι η θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο λόγω έκθεσης στο κρύο μπορεί να αυξήσει κατά 10% περίπου το βασικό μεταβολισμό. 10% αύξηση του βασικού μεταβολισμού κατά την έκθεση στο κρύο βρέθηκε και σε μια άλλη μελέτη (71) κατά την οποία 162 εθελοντές εκτέθηκαν στους 19 ºC για δύο ώρες την περίοδο του χειμώνα (72).

Συνοψίζοντας, φαίνεται να υπάρχει μια ατομικότητα στην αντίδραση στο κρύο. Το αν αυτό οφείλεται στην ύπαρξη ή όχι ενεργού BAT και σε ποιο βαθμό δεν έχει πλήρως διερευνηθεί. Ωστόσο ενδείξεις από τις ήδη υπάρχουσες μελέτες τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους δείχνουν ότι η ενεργοποίηση του BAT μέσω της έκθεσης στο κρύο μπορεί να συμβάλει σημαντικά στην διατήρηση της θερμοκρασίας του σώματος, στην αύξηση του μεταβολισμού και κατ επέκταση στη διατήρηση ενός φυσιολογικού βάρους.

2.4. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να ερευνηθούν οι διαφορές στις αντιδράσεις κατά την ήπια έκθεση στο κρύο, χωρίς την ύπαρξη μυϊκής δραστηριότητας, σε εθελοντές που εμφανίζουν ενεργοποιημένο BAT και σε εθελοντές που δεν εμφανίζουν. Επίσης να διερευνηθεί αν υπάρχει διαφορά στο μεταβολικό ρυθμό ηρεμίας ανάμεσα στις δύο αυτές ομάδες αλλά και στην κάθε ομάδα ξεχωριστά πριν και μετά την έκθεση στο κρύο.

Αναμένεται σύμφωνα με τη βιβλιογραφία ότι οι εθελοντές με αυξημένο BAT θα εμφανίζουν μεγαλύτερη θερμογενετική ικανότητα σε σχέση με την ομάδα που εμφανίζει χαμηλό BAT. Αυτό μπορεί να αποδοθεί εξ' ολοκλήρου στη δράση του BAT λόγω της έλλειψης μυϊκού τρόμου. Επίσης αναμένεται οι εθελοντές που έχουν αυξημένο BAT να έχουν αυξημένο μεταβολισμό, τόσο σε σχέση με τις θερμοουδέτερες συνθήκες όσο και σε σχέση με την ομάδα που εμφανίζει μειωμένο BAT.

3. Μεθοδολογία

3.1. Δείγμα της έρευνας

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν συνολικά 12 άνδρες. Οι επτά από αυτούς εμφάνιζαν υψηλό όγκο BAT= 69±18ml (High BAT Volume, HBAT) και οι υπόλοιποι πέντε χαμηλό όγκο BAT= 4,4±2,3 ml, $p< 0,05$ (Low BAT Volume, LBAT). Η κατάταξη των εθελοντών στις δύο ομάδες HBAT και LBAT έγινε βάση την πρόσληψη της 18F-FDG κατά την εξέταση PET/CT. Οι εθελοντές που εμφάνισαν έντονη πρόσληψη 18F-FDG μπήκαν στην HBAT ομάδα ενώ αυτοί που εμφάνισαν μηδενική ή ελάχιστη πρόσληψη της 18F-FDG μπήκαν στην ομάδα LBAT. Οι έντεκα από τους εθελοντές ήταν υπέρβαροι ή παχύσαρκοι με δείκτη μάζας σώματος ≥ 25 kg/m^2, ενώ ένας εθελοντής είχε φυσιολογικό δείκτη μάζας σώματος: 23,9 kg/m^2. Οι οκτώ από τους συμμετέχοντες κατατάχθηκαν σε προδιαβητικό στάδιο σύμφωνα με τα κριτήρια της Αμερικάνικής Διαβητολογικής Εταιρίας (American Heart Association) (73). Πριν την έναρξη της μελέτης όλοι οι εθελοντές ενημερώθηκαν για τους σκοπούς της μελέτης και συναίνεσαν εγγράφως για την εθελοντική συμμετοχή τους σε αυτή σύμφωνα με την Διακήρυξη του Ελσίνκι. Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την επιτροπή δεοντολογίας του Ιατρικού κλάδου του Πανεπιστημίου του Τέξας.

3.2. Σχεδιασμός της έρευνας

Κάθε εθελοντής έλαβε μέρος σε δύο μελέτες οι οποίες απείχαν δύο εβδομάδες μεταξύ τους. Η μια μελέτη περιλάμβανε έκθεση στο κρύο(Cold Exposure CE) για 8 ώρες και η δεύτερη έγινε σε θερμοουδέτερες συνθήκες (Thermoneutral TN) όπως φαίνεται και στο διάγραμμα της έρευνας (Εικόνα 5). Πρώτα διεξήχθη η μελέτη με την έκθεση στο κρύο προκειμένου να εντοπιστεί ανατομικά ο BAT και να καθοριστεί ο όγκος του σε κάθε εθελοντή.

Τρείς μέρες πριν τη διεξαγωγή κάθε μελέτης δόθηκε σε κάθε εθελοντή μια δίαιτα διατήρησης βάρους που περιλάμβανε πάνω από 200 γραμμάρια υδατάνθρακες (>200g CHO) ανά ημέρα. Επίσης ζητήθηκε από τους εθελοντές να απέχουν από οποιαδήποτε φυσική δραστηριότητα και να μην καταναλώνουν αλκοόλ ή κάποιο καφεϊνούχο ποτό. Μια μέρα πριν από κάθε μελέτη οι

εθελοντές προσέρχονταν στο Institute for Translational Sciences-Clinical Research Center στις 18:00 και στις 20:00 τους χορηγούνταν ένα τυποποιημένο γεύμα (55% υδατάνθρακες, 30% λίπος και 15% πρωτεΐνες). Κατά τη διάρκεια των μελετών οι εθελοντές ήταν νηστικοί από το προηγούμενο βράδυ.

3.3. Εξατομικευμένο πρωτόκολλο έκθεσης στο κρύο και θερμοουδέτερες συνθήκες

Για τη πρώτη δοκιμή (έκθεση στο κρύο) χρησιμοποιήθηκε εξατομικευμένο στον κάθε εθελοντή πρωτόκολλο έκθεσης στο κρύο προκειμένου να επιτευχθεί στο μέγιστο η θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο (non-shivering thermogenesis). Η θερμοκρασία περιβάλλοντος του χώρου της μελέτης ήταν περίπου 19ºC κατά την έκθεση στο κρύο και 26-28 ºC για τη δοκιμή σε θερμοουδέτερες συνθήκες. Στην πρώτη μελέτη κάθε εθελοντής φορούσε ένα γιλέκο το οποίο έχει τη δυνατότητα να κρυώνει το σώμα με την κυκλοφορία κρύου υγρού (Cool Flow® adjustable vest and blanket and Arctic Chiller cooling system, Polar Products Inc). Αρχικά η θερμοκρασία του γιλέκου τέθηκε στους 20ºC και στη συνέχεια μειωνόταν κατά 1ºC έως ότου οι εθελοντές δήλωναν μυϊκό τρόμο. Ο μυϊκός τρόμος επιθεωρήθηκε οπτικά ωστόσο ενδεικτικά σε τρείς εθελοντές διενεργήθηκε και ηλεκτρομυογράφημα (ElectroMyoGraphy, EMG; Delsys, Bagnoli 8) για διάστημα πέντε λεπτών έτσι ώστε να επιβεβαιωθεί η μυϊκή δραστηριότητα στον μείζονα θωρακικό και στον ορθό μηριαίο (74). Κατά τη διάρκεια και των δύο δοκιμών η θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος μετρήθηκε χρησιμοποιώντας ένα τηλεμετρικό χάπι (Core-Temp, HQ Inc.) ενώ για τη θερμοκρασία του δέρματος χρησιμοποιήθηκαν ασύρματοι αισθητήρες (probes). Οι εθελοντές πήραν το τηλεμετρικό χάπι και στη συνέχεια καταγράφονταν οι μετρήσεις κάθε δέκα λεπτά.

Για τη θερμοκρασία του δέρματος τοποθετήθηκαν 14 probes σε διάφορα σημεία του σώματος καθώς και ένα επιπλέον στην υπερκλείδια περιοχή (SupraClavicular SC) όπου έχουμε συνήθως την εμφάνιση του BAT στους ενήλικες. Η μέτρηση των probes καταγράφονταν κάθε δύο λεπτά. Η χρήση των probes μας δείχνει την θερμοκρασία του δέρματος σε ένα επιμέρους σημείο του σώματος. Παίρνοντας το μέσο όρο της θερμοκρασίας που δείχνουν τα probes μπορούμε να έχουμε μια πιο αντικειμενική τιμή της μέσης θερμοκρασίας του δέρματος (75).

Ακόμη κατά την έκθεση στο κρύο, χορηγήθηκε στους εθελοντές η κλίμακα εκτίμησης της θερμοκρασίας ASHRAE. Κάθε μισή ώρα από την έναρξη της μελέτης ζητούνταν στους εθελοντές να εκτιμήσουν από το 1 έως το 7 το πώς αισθάνονται σε σχέση με την θερμοκρασία του σώματός τους. (1: κρύο, 2: δροσερά, 3 ελαφρώς δροσερά, 4: ουδέτερα, 5: ελαφρώς ζεστά, 6: ζεστά, 7: πάρα πολύ ζεστά).

3.4. Εξέταση σε ποζιτρονικό / αξονικό τομογράφο (PET/CT)

Πέντε ώρες μετά την έναρξη της μελέτης (έκθεση στο κρύο και θερμοουδέτερες συνθήκες), χορηγήθηκε στους εθελοντές 185 MBq 18F-FDG. Μια ώρα μετά διενεργήθηκε PET/CT (General Electric Medical Systems) προκειμένου να εκτιμηθεί ο όγκος καθώς και η δραστηριότητα του BAT. Η δραστηριότητα του BAT συνάδει με την πρόσληψη της 18F-FDG από τον ιστό και υπολογίζεται με τον τύπο: όγκος BAT (σε ml) * μέση τιμή SUV (Standardized Uptake Value), g/ml της προσλαμβανόμενης 18F-FDG. Ο SUV είναι δείκτης απορρόφησης της 18F-FDG .

Αν ένας εθελοντής εμφάνιζε BAT καθοριζόταν από τα παρακάτω κριτήρια: α. Εμφανή πρόσληψη 18F-FDG στην αυχενική/υπερκλείδια περιοχή, στο μεσοθωράκιο, παρασπονδυλικά, και/ή στις περιοχές γύρω από τους νεφρούς. β. Η πρόσληψη της 18F-FDG να έχει μια μέση τιμή SUV 1,5 ή μεγαλύτερη και γ. η πυκνότητα του ιστού να είναι -190 έως -30 HU (Hounsfield units-κλίμακα ποσοτικής μέτρησης ραδιοπυκνότητας) (76), (77), (78).

3.5. Σύσταση σώματος

Η σύσταση του σώματος σε άλιπη και λιπώδη προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της απορροφησιομετρίας ακτινών Χ διπλής ενέργειας (Dual X-Ray Absorptiometry, Lunar iDXA*, GE Healthcarem Mickleton, NJ).Ο αξονικός τομογράφος χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση του ολικού υποδόριου λίπους καθώς και του κοιλιακού.

3.6. Έμμεση θερμιδομετρία

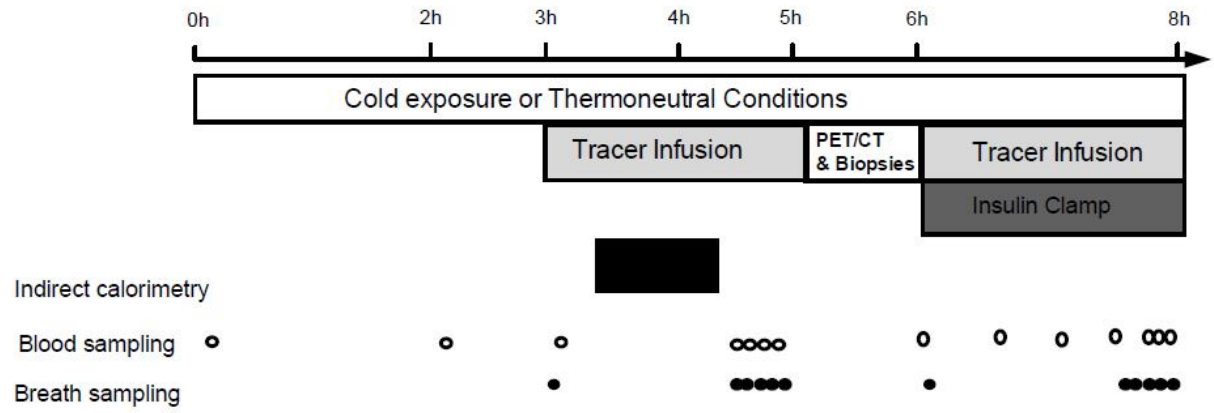
Με τη μέθοδο της έμμεσης θερμιδομετρίας υπολογίστηκε ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας (Resting Energy Expenditure REE, Vmax EncoreTM CareFusion Inc.) (79). Ο τύπος που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του REE ήταν ο τύπος του Weir:

$$REE= [3, 9 (VO2+1, 1 VCO2)] 1, 44$$

VO2= πρόσληψη οξυγόνου (ml/min)

VCO2= έκλυση διοξειδίου του άνθρακα (ml/min)

Τα VO2 και VCO2 μετρήθηκαν για 45 λεπτά περίπου τρείς φορές κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας. Πριν αρχίσει η μελέτη, μετά από 3 ώρες και 45 λεπτά από την έναρξη της παρέμβασης (CE και TN) και κατά την διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού(Hyperinsulinemic euglycemic clamp) το οποίο διεξήχθη τις τελευταίες δύο ώρες της κάθε δοκιμασίας .



Εικόνα 5: Πρωτόκολλο μελέτης.

3.7. Στατιστική Ανάλυση

Έγινε περιγραφική και επαγωγική στατιστική ανάλυση. Η κατανομή των υπό εξέταση μεταβλητών ήταν κανονική (έλεγχος με δοκιμασία Shapiro-Wilk). Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές δοκιμασίες (t-test για ανεξάρτητα και εξαρτημένα δείγματα και η δοκιμασία pearson για συσχετίσεις), ενώ το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε σε $p<0,05$. Χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS 18.0.

4. Αποτελέσματα

4.1 Χαρακτηριστικά Δείγματος

Τα χαρακτηριστικά των εθελοντών καθώς και τα ζωτικά τους σημεία τόσο κατά την έκθεση στο κρύο όσο και στις θερμοουδέτερες συνθήκες φαίνονται στους πίνακες 1 και 2 αντίστοιχα. Οι ομάδες διέφεραν στατιστικά σημαντικά ως προς τον όγκο και τη δραστηριότητα του φαιού λίπους ($p<0,05$). Η ομάδα HBAT είχε σαφώς πιο αυξημένο όγκο φαιού λίπους και αυξημένη δραστηριότητα. Επίσης η ομάδα HBAT είχε οριακά χαμηλότερο BMI (οριακά σημαντική διαφορά, $p= 0,054$). Και στις δύο ομάδες υπήρχαν εθελοντές υπέρβαροι με δείκτη μάζας σώματος >25, παχύσαρκοι με δείκτη μάζας σώματος > 30 ενώ στην ομάδα HBAT ένας εθελοντής εμφάνιζε φυσιολογικό δείκτη μάζας σώματος = 23,9 kg/m^2 . Όσον αφορά στα ζωτικά σημεία τόσο κατά την έκθεση στο κρύο όσο και σε θερμοουδέτερες συνθήκες δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες. Οριακά σημαντική διαφορά ($p= 0,058$) παρατηρήθηκε μόνο στην Διαστολική Αρτηριακή Πίεση (ΔΑΠ) μετά την έκθεση στο κρύο, με την ομάδα HBAT να εμφανίζει μικρότερο μέσο όρο.

Πίνακας 1: Βασικά χαρακτηριστικά εθελοντών των δύο ομάδων της μελέτης HBAT και LBAT.

Παράμετροι	HBAT N=7	LBAT N=5
Ηλικία (χρόνια)	39±15,3	52,8 ± 10,8
Άλιπη Μάζα (Kg)	60,3±9,7	61,6±7,3
Λιπώδης Μάζα (Kg)	23,5±12,7	28,7±7,2
Δ.Μ.Σ.(Kg/m^2)	27,1±3,7	32,1±4,2 º
Όγκος BAT (ml)	69,0±18,0	4,4±2,3*
BAT Δραστηριότητα (όγκος BAT*mean SUV)	153,2±12,7	7,4±8,7 *

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση. Δ.Μ.Σ: Δείκτης Μάζας Σώματος. Το σύμβολο (º) αφορά οριακά στατιστικά σημαντική διαφορά p= 0,054. Το σύμβολο (*) αναφέρεται σε στατιστικά σημαντική διαφορά p< 0,05 ανάμεσα στις δύο ομάδες.

Πίνακας 2: Διαφορές μεταξύ των ομάδων HBAT/LBAT ως προς τα ζωτικά σημεία κατά την έκθεση στο κρύο και σε θερμοουδέτερες συνθήκες

Παράμετροι	HBAT (N=7)	LBAT (N=5)
	TN	
ΣΑΠ	114,0±10,7	119,2 ±12,8
ΔΑΠ	67,2± 6,6	67,6 ±4,1
Αριθμός αναπνοών	16,1 ±1,2	15,9 ±1,0
Σφύξεις	59,5± 6,8	61,9± 6,8
	CE	
ΣΑΠ	125,4± 7,6	134,9 ±11,6
ΔΑΠ	77,7± 0,4	82,7± 5,0*

Αριθμός αναπνοών	17,0± 1,3	18,6 ±1,5
Σφύξεις	59,6± 8,0	54,9± 7,9

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση. Το σύμβολο (*) αναφέρεται σε ενδεικτική στατιστική σημαντικότητα p= 0,058. TN: Thermoneutral conditions/ Θερμοουδέτερες συνθήκες, CE: Cold exposure / Έκθεση στο κρύο, ΣΑΠ: Συστολική Αρτηριακή Πίεση, ΔΑΠ: Διαστολική Αρτηριακή Πίεση.

Στον πίνακα 3 φαίνονται οι συσχετίσεις της ηλικίας και των σωματομετρικών χαρακτηριστικών με τη δραστηριότητα του BAT,την ποσότητα του λιπώδους ιστού και της άλιπης μάζας στο σύνολο του δείγματος. Δεν παρατηρούνται αξιόλογες στατιστικά σημαντικά συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών, με εξαίρεση την αρνητική συσχέτιση ηλικίας –BAT δραστηριότητας, τη θετική μεταξύ ύψους και άλιπης μάζας και τη θετική συσχέτιση ηλικίας και λιπώδους μάζας.

Πίνακας 3: Συσχετίσεις ηλικίας και σωματομετρικών χαρακτηριστικών με τη δραστηριότητα και την ποσότητα του λιπώδους ιστού (σύνολο δείγματος).

		Ύψος	Βάρος	BMI	BAT Δραστηριότητα	Fat mass(DXA Fat mass)	FFM (DXA BMC+Lean mass)
Ηλικία	r	0,35	0,07	0,30	**-0,69***	**0,73****	-0,34
	p	0,26	0,81	0,34	0,01	0,00	0,26
	N	12	12	0,02	12	12	12
Ύψος	r		-0,05	0 ,02	0,11	-0,48	**0,81****
	p		0,85	0,93	0,73	0,10	0,00
	N		12	12	12	12	12
Βάρος	r			**0,87****	0,40	-0,12	-0,25
	p			0,00	0,19	0,69	0,42
	N			12	12	12	12
BMI	r				0,36	0,36	-0,29
	p				0,23	0,23	0,30
	N				12	12	12
BAT	r					-0,45	0,22
Δραστηριότητα	p					0,13	0,47
	N					12	12

Fat mass(DXA Fat mass)	r	-0,40
	p	0,18
	N	12

Το σύμβολο (*) αναφέρεται σε στατιστική σημαντικότητα p<0,05, ενώ το σύμβολο (**) αναφέρεται σε στατιστική σημαντικότητα p<0,01. Fat mass: Λιπώδης Μάζα, FFM: Άλιπη Μάζα, BMI: Δείκτης Μάζας Σώματος, r: συντελεστής συσχέτισης.

Στον πίνακα 4 φαίνονται οι συσχετίσεις της ηλικίας και των σωματομετρικών χαρακτηριστικών με τη δραστηριότητα του BAT,την ποσότητα του λιπώδους ιστού και της άλιπης μάζας όταν οι δύο ομάδες εξετάζονται χωριστά.

Πίνακας 4 : Συσχετίσεις ηλικίας και σωματομετρικών χαρακτηριστικών με τη δραστηριότητα BAT και την ποσότητα λιπώδους ιστού και άλιπης μάζας (στις ομάδες LBAT/HBAT).

			BAT Δραστηριότητα	Fat mass(DXA Fat mass)	FFM (DXA BMC+Lean mass)
LBAT	Ηλικία	r	0,31	0,46	-0,69
		p	0,60	0,43	0,19
		N	5	5	5
	Ύψος	r	-0,89	0,31	0,84
		p	0,40	0,60	0,07
		N	5	5	5
	Βάρος	r	0,78	0,04	**-0,88***
		p	0,11	0,94	0,04
		N	5	5	5
	BMI	r	0,83	0,00	**-0,91***
		p	0,07	0,99	0,03
		N	5	5	5
	BAT Δραστηριότητα	r		-0,23	-0,76
		p		0,70	0,12
		N		5	5

	Fat mass(DXA Fat mass)	r			0,22
		p			0,71
		N			5
HBAT	Ηλικία	r	-0,67	**0,80***	-0,34
		p	0,09	0,03	0,44
		N	7	7	7
	Ύψος	r	0,04	-0,64	**0,84***
		p	0,92	0,11	0,01
		N	7	7	7
	Βάρος	r	0,20	-0,07	0,68
		p	0,65	0,87	0,09
		N	7	7	7
	BMI	r	0,24	0,38	0,07
		p	0,60	0,39	0,86
		N	7	7	7
	BAT Δραστηριότητα	r		-0,44	0,47
		p		0,32	0,28
		N		7	7
	Fat mass(DXA Fat mass)	r			-0,64
		p			0,12
		N			7

Το σύμβολο (*) αναφέρεται σε στατιστική σημαντικότητα $p<0,05$. Fat mass: Λιπώδης Μάζα, FFM: Άλιπη Μάζα, BMI: Δείκτης Μάζας Σώματος, r: συντελεστής συσχέτισης.

Στον παραπάνω πίνακα φαίνεται να υπάρχει θετική συσχέτιση ηλικίας και λιπώδους μάζας που είναι στατιστικά σημαντική μόνο στην ομάδα HBAT. Στην ομάδα LBAT φαίνεται να υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του δείκτη μάζας σώματος και της άλιπης μάζας που σημαίνει ότι τα άτομα στην ομάδα αυτή με αυξημένο δείκτη μάζας σώματος έχουν λιγότερη άλιπη μάζα.

4.2 . Χαρακτηριστικά των δύο ομάδων ως προς τις θερμοκρασίες σώματος και του περιβάλλοντος χώρου

Στον πίνακα 4 φαίνονται οι θερμοκρασίες των δύο ομάδων και του περιβάλλοντος στις θερμοουδέτερες συνθήκες και στην έκθεση στο κρύο. Για την HBAT ομάδα η θερμοκρασία του πυρήνα κατά την έκθεση στο κρύο ήταν 36,7±1,1 ºC ενώ η θερμοκρασία δέρματος ήταν 31±1,1 ºC. Στην LBAT ομάδα η θερμοκρασία του πυρήνα ήταν 36,5±1,1 ºC ενώ η θερμοκρασία του δέρματος ήταν 31±1,0 ºC.

Πίνακας 4: Διαφορές μεταξύ των ομάδων HBAT/LBAT ως προς τις θερμοκρασίες σώματος και περιβάλλοντος χώρου.

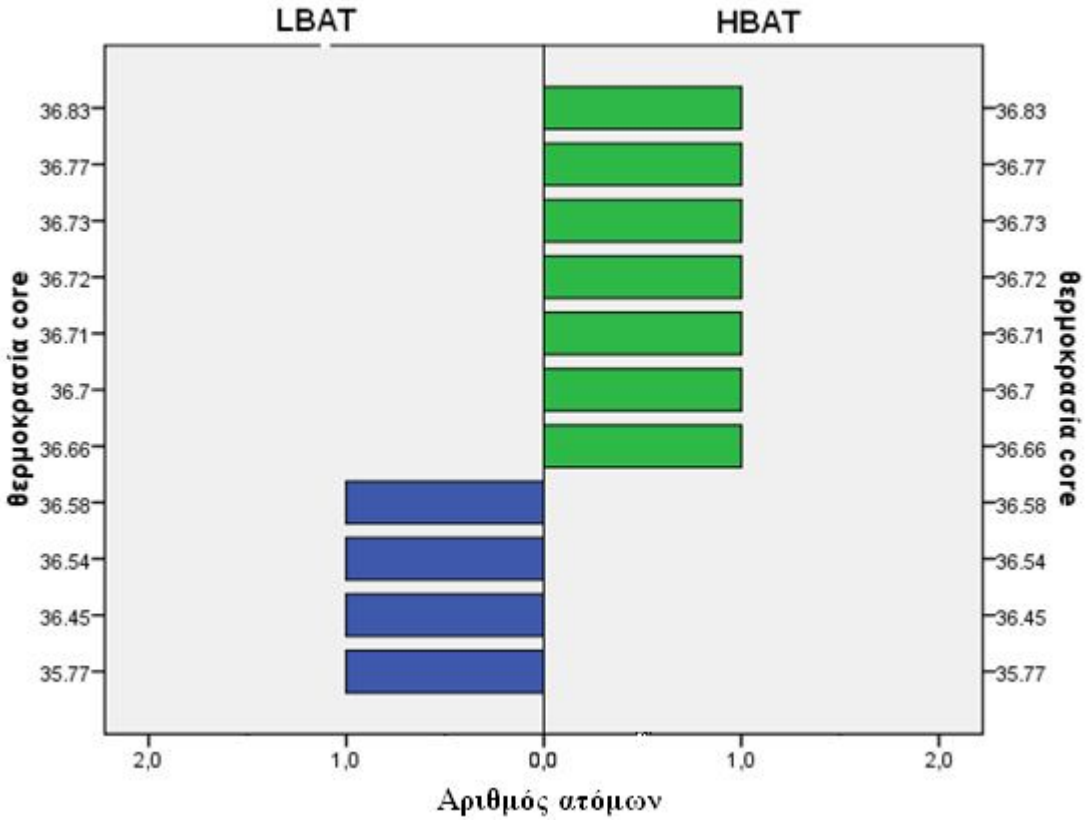
Παράμετροι	HBAT (N=7)	LBAT (N=5)
	TN	
Θερμοκρασία core (ºC)	36,8±0,2	37,1±0,6
Θερμοκρασία δωματίου (ºC)	26,1±0,8	26,2±1,1
Θερμοκρασία δέρματος (ºC)	34,5±0,1	34,1±0,6
	CE	
Θερμοκρασία core (ºC)	36,7±0,05	36,5±0,1*
Θερμοκρασία δωματίου (ºC)	19,3±0,7	19,8±1,0
Θερμοκρασία γιλέκου (ºC)	19,2±1,1	19,7±2,2
Θερμοκρασία δέρματος (ºC)	31,0±1,1	31,0±1,0

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση. TN: Thermoneutral conditions/ Θερμοουδέτερες συνθήκες, CE: Cold exposure / Έκθεση στο κρύο, Θερμοκρασία core: Θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος που μετράται με τηλεμετρικό χάπι. Το σύμβολο (*) δηλώνει στατιστική σημαντικότητα p= 0,040 μετά την αφαίρεση μίας ακραίας τιμής από την ομάδα LBAT.

Στη θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος η ομάδα HBAT διέφερε στατιστικά σημαντικά από την LBAT (p=0,040), έχοντας κατά 0,14 βαθμούς υψηλότερη τιμή μετά την αφαίρεση μίας ακραίας τιμής από την ομάδα LBAT. Αυτό σημαίνει ότι τα άτομα με υψηλή BAT

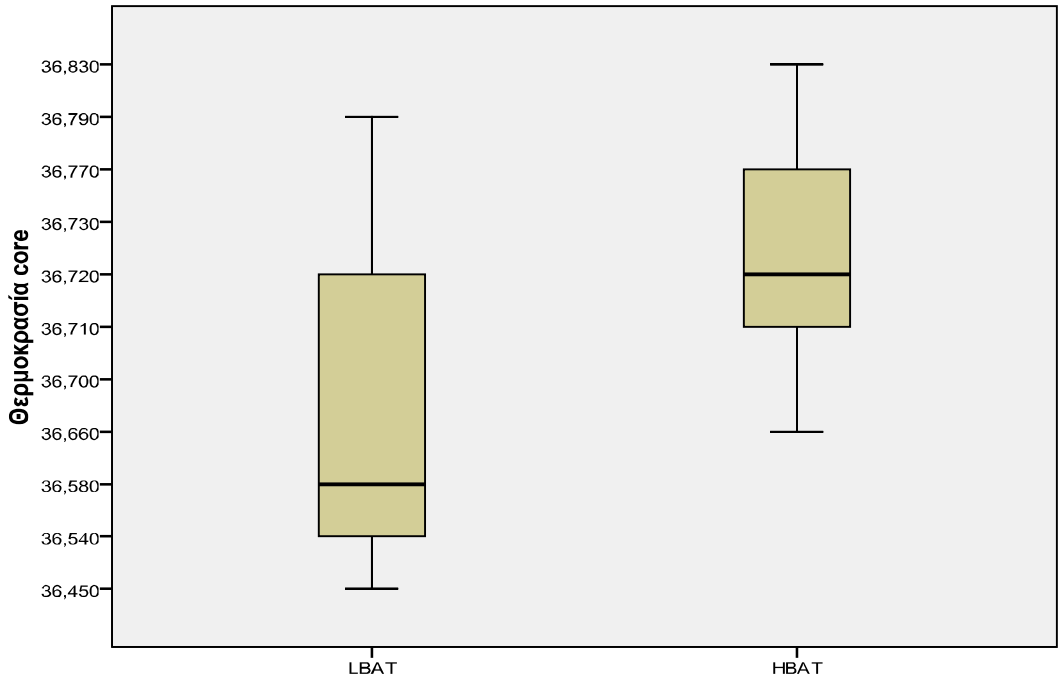
δραστηριότητα μπόρεσαν να αυξήσουν τη θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο. Στο γράφημα 1 αναπαρίστανται οι θερμοκρασίες του πυρήνα των εθελοντών και των δύο ομάδων κατά την έκθεση στο κρύο. Ομοίως και στο εν λόγω γράφημα φαίνεται ότι στην ομάδα HBAT παρατηρήθηκαν οι υψηλότερες θερμοκρασίες πυρήνα με διαφορά στατιστικά σημαντική (μετά την αφαίρεση μιας ακραίας τιμής στην ομάδα LBAT):t-test, p=0,040.

Γράφημα 1. Διαφορές LBAT/HBAT στη θερμοκρασία core κατά την έκθεση στο κρύο. Στην ομάδα LBAT έχει γίνει αφαίρεση μιας ακραίας τιμής.



Αν δεν αφαιρεθεί η ακραία τιμή από την ομάδα LBAT, η διαφορά στη θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος ανάμεσα στις δύο ομάδες είναι ενδεικτικής στατιστικής σημαντικότητας (p=0,080). Στο γράφημα 2 απεικονίζεται σε μορφή θηκογράμματος η διαφορά στη θερμοκρασία του πυρήνα στις δύο ομάδες, χωρίς την αφαίρεση της ακραίας τιμής. Φαίνεται ωστόσο η διαφορά στην διάμεσο τιμή (έντονη μαύρη γραμμή) και στο ύψος του πλαισίου (κατανομή μεταξύ 25^{ης} και 75^{ης} εκατοστιαίας θέσης).

Γράφημα 2. Θηκόγραμμα διαφοράς LBAT/HBAT στη θερμοκρασία core κατά την έκθεση στο κρύο. Η έντονη μαύρη γραμμή δείχνει τη διάμεσο τιμή των θερμοκρασιών (50η εκατοστιαία θέση). Η γραμμή του θηκογράμματος που είναι παράλληλη και πιο κοντά στον οριζόντιο άξονα δείχνει την 5η εκατοστιαία θέση, ενώ αυτή που είναι παράλληλη αλλά πιο απομακρυσμένη αντιπροσωπεύει την 95η εκατοστιαία θέση. Η πλευρά του πλαισίου που είναι πιο κοντά και παράλληλη στον οριζόντιο άξονα αντιπροσωπεύει την 25η εκατοστιαία θέση ενώ η άλλη παράλληλη πλευρά στον οριζόντιο άξονα αντιπροσωπεύει την 75η εκατοστιαία θέση.



4.3 Βασικός μεταβολισμός των δύο ομάδων κατά την έκθεση στο κρύο και στις θερμοουδέτερες συνθήκες

Όταν στις δύο ομάδες έγινε σύγκριση ως προς το βασικό μεταβολισμό, φάνηκε ότι κατά την έκθεση στο κρύο η ομάδα HBAT εμφάνισε οριακά υψηλότερες τιμές (p=0,06) βασικού μεταβολισμού στις 3 ώρες και 45 λεπτά από την έναρξη της μελέτης. Αυτό σημαίνει ότι η ομάδα HBAT εμφάνισε υψηλότερη θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο. Δεν παρατηρήθηκε το ίδιο κατά τη μέτρηση του βασικού μεταβολισμού που έγινε κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού. (Πίνακας 5).

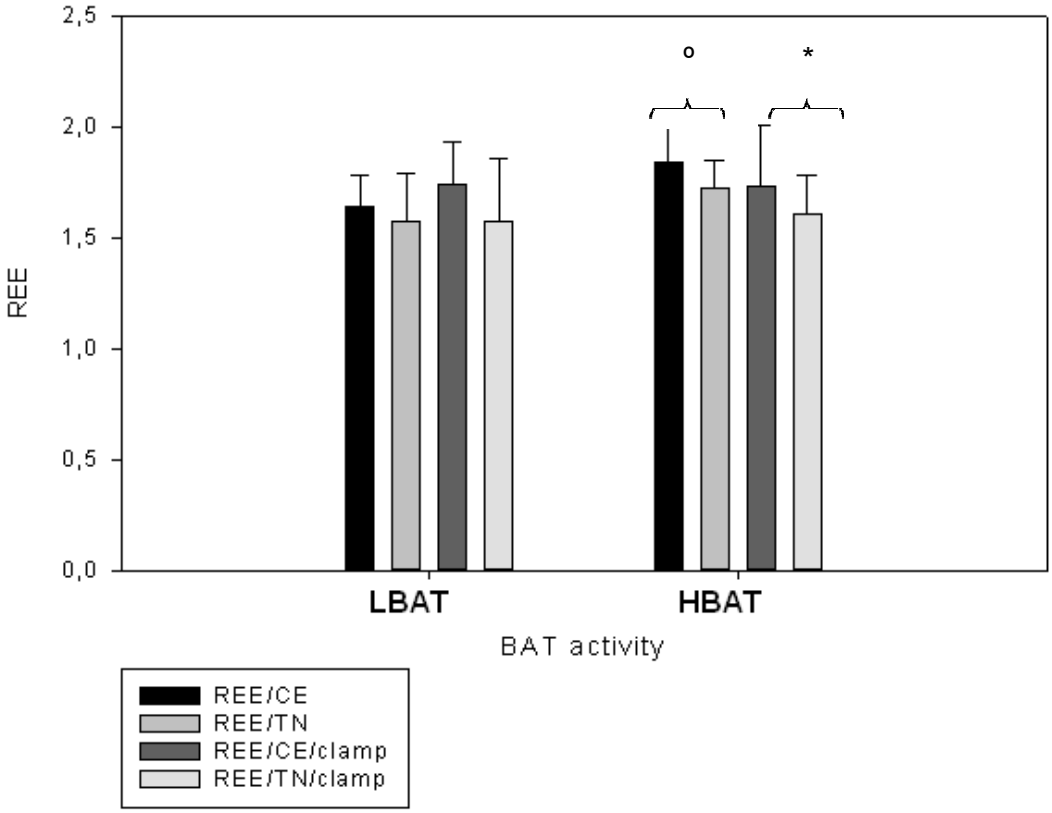
Πίνακας 5: Διαφορές μεταξύ των ομάδων HBAT/LBAT ως προς τον βασικό μεταβολισμό κατά την έκθεση σε κρύο και θερμοουδέτερες συνθήκες, στις 3 ώρες και 45 λεπτά και κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού.

Παράμετροι	HBAT (N=7)	LBAT (N=5)
	TN	
REE (Kcal/d) στις 3h 45 min	1723± 0,1	1579 ±0,2
REE (Kcal/d) (insulin clamp)	1605 ±0,1	1463± 0,1
	CE	
REE (Kcal/d) στις 3h 45min	1845 ±0,2	1637 ±0,1*
REE (Kcal/d) (insulin clamp)	1801± 0,2	1744± 0,1

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ± τυπική απόκλιση. Το (*) δείχνει οριακά στατιστική σημαντικότητα p=0,06. REE: Βασικός Μεταβολισμός.

Όταν έγινε η σύγκριση στην ίδια ομάδα, αναφορικά με την έκθεση στο κρύο και τις θερμοουδέτερες συνθήκες, η διαφορά ήταν οριακά στατιστικά σημαντική μόνον στην ομάδα HBAT (p=0,048) και συγκεκριμένα κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασιας ινσουλινικού αποκλεισμού, ενώ στην ίδια ομάδα στη μέτρηση που έγινε στις 3 ώρες και 45 λεπτά η διαφορά περιορίζεται σε ενδεικτική στατιστικής σημαντικότητας (p=0,072). Ωστόσο, παρόμοια τάση η οποία δεν είναι στατιστικά σημαντική διαπιστώθηκε, τουλάχιστον όσον αφορά το βασικό μεταβολισμό κατά την ευγλυκαιμική υπερινσουλιναιμική δοκιμασία ινσουλινικού αποκλεισμού και στην ομάδα LBAT (p=0,114). Κατά την έκθεση στο κρύο σημειώνεται αύξηση του βασικού μεταβολισμού στην ομάδα HBAT από 7% έως και 10% κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού σε συγκριτικά με την αρχική μέτρηση.

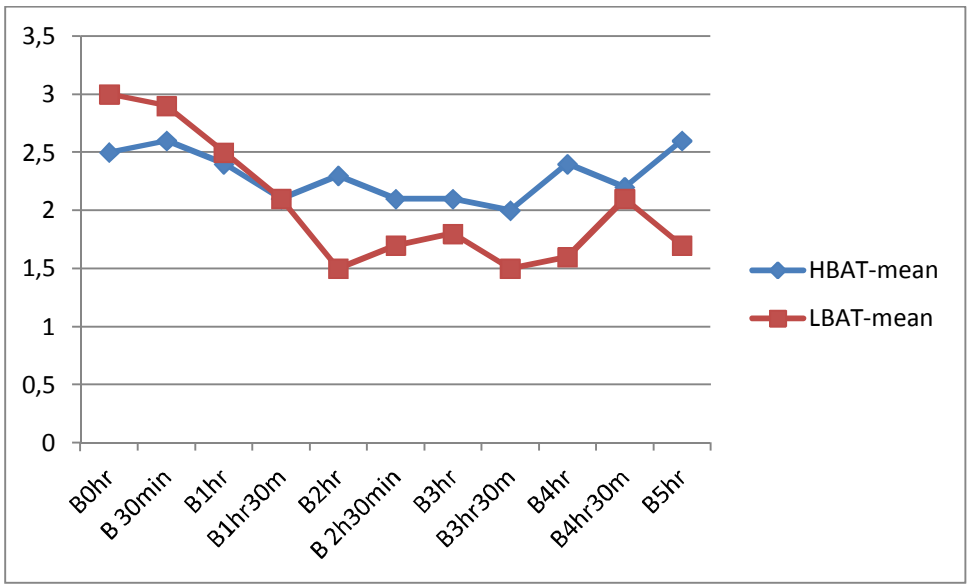
Γράφημα 3. Διαφορές στο βασικό μεταβολισμό κατά τις διάφορες φάσεις του πειράματος.



REE: Βασικός Μεταβολισμός (kcal*10^3/d), REE/CE: Βασικός μεταβολισμός-έκθεση στο κρύο (3h 45min), REE/TN: Βασικός μεταβολισμός-θερμοουδέτερες συνθήκες (3h 45min). Το σύμβολο (*) δηλώνει στατιστικά σημαντική διαφορά p=0,048. Το σύμβολο (º) δηλώνει ενδεικτική στατιστική σημαντικότητα p=0,072.

Αναφορικά με το πώς αντιλαμβάνονται την έκθεση στο κρύο οι δύο ομάδες εκτιμήθηκε με την κλίμακα ASHRAE. Μιάμιση ώρα μετά την έναρξη της δοκιμασίας, η βαθμολογία ASHRAE στην ομάδα LBAT υπολείπεται σταθερά εκείνης στην ομάδα HBAT, που σημαίνει ότι η ανοχή στον κρύο ήταν μικρότερη Η μέση τιμή στις δύο ομάδες ήταν 2,30±0,73 και 2,00±0,92 για την ομάδα HBAT και LBAT αντίστοιχα, η διαφορά ωστόσο δεν ήταν στατιστικά σημαντική (p=0,500).

Γράφημα 4. Πορεία του δείκτη ASHRAE κατά τις διάφορες χρονικές στιγμές της δοκιμασίας.



Η κάθετη στήλη του πίνακα εκφράζει το πώς αισθάνονται οι εθελοντές σχετικά με τη θερμοκρασία του σώματος τους. 1: κρύο, 2: δροσερά, 3: ελαφρώς δροσερά.

5. Συζήτηση

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να ερευνηθεί αν ο φαιός λιπώδης ιστός συμβάλει στη θερμογένεση των ενηλίκων που εμφανίζουν ενεργοποιημένο φαιό λίπος σε σχέση με αυτούς που δεν εμφανίζουν καθώς και αν συμβάλει στην αύξηση του μεταβολισμού μετά από ήπια έκθεση στο κρύο. Σε θερμοουδέτερες συνθήκες η μέση θερμοκρασία δέρματος στην HBAT ομάδα ήταν 34,5±1,1 ºC ενώ στην ομάδα LBAT ήταν 34,1±0,6 ºC. Μέτα την εφαρμογή του εξατομικευμένου πρωτοκόλλου έκθεσης στο κρύο για 8 ώρες η μέση θερμοκρασία δέρματος στην ομάδα HBAT ήταν 31,0 ± 1,1 ºC ενώ για στην ομάδα LBAT ήταν31,0± 1,0. Οι θερμοκρασίες δέρματος δεν διέφεραν στις δυο ομάδες. Το αποτέλεσμα αυτό είναι σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες (9), (16), (66), (65), (68). Η πτώση της θερμοκρασίας του δέρματος είναι αναμενόμενη γιατί σύμφωνα με τους θερμορυθμιστικούς μηχανισμούς όταν ο ανθρώπινος οργανισμός εκτίθεται στο κρύο γίνεται περιφερική αγγειοσύσπαση με σκοπό να διατηρηθεί σταθερή η θερμοκρασία στον πυρήνα του σώματος και συνεπώς να προφυλαχθούν τα ζωτικά όργανα από την πτώση της θερμοκρασίας.

Η θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος στην ομάδα HBAT ήταν κατά 0,14 ºC υψηλότερη μετά την αφαίρεση μίας ακραίας τιμής από την ομάδα LBAT. Η διαφορά αυτή ήταν στατιστικά σημαντική (p=0,040). Πιο αυξημένη θερμοκρασία πυρήνα κατά την έκθεση στο κρύο

παρατηρείται και στην μελέτη του van Marken Lichtenbelt (9). Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 24 εθελοντές από τους οποίους οι 23 εμφάνιζαν ενεργό φαιό λίπος. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν ότι ο φαιός λιπώδης ιστός πιθανόν να εμπλέκεται και στους ενήλικες στη θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο όπως συμβαίνει και στα πειραματόζωα (5). Πιο αναλυτικά ο πιθανός ρόλος του φαιού λίπους κατά την έκθεση στο κρύο φαίνεται να είναι η παραγωγή θερμότητας η οποία διοχετεύεται στον πυρήνα του σώματος για τη διατήρηση της θερμοκρασίας του σε σταθερά επίπεδα (9). Ο ίδιος ερευνητής σε μια προγενέστερη έρευνα (16) είχε δείξει ότι η θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος μειώθηκε στατιστικά σημαντικά. Το αποτέλεσμα αυτό πιθανό να προέκυψε γιατί οι εθελοντές εκτέθηκαν σε χαμηλότερη θερμοκρασία (16 ºC) για 60 ώρες. Το διάστημα έκθεσης στο κρύο είναι πολύ μεγαλύτερο από αυτό της παρούσας μελέτης και πιθανόν να επηρεάζει τη θερμοκρασία του πυρήνα. Σε μια άλλη μελέτη δεν βρέθηκε αύξηση της θερμοκρασία του πυρήνα του σώματος κατά την 12ωρη έκθεση στους 19 ºC (66). Στη μελέτη αυτή δεν μελετήθηκε αν οι εθελοντές εμφάνιζαν ενεργοποιημένο φαιό λιπώδη ιστό. Ακόμη σε μια μελέτη που έγινε σε παχύσαρκους εθελοντές με δείκτη μάζας σώματος 42.1±3.8 kg/m^2 φάνηκε αύξηση της θερμοκρασίας του πυρήνα του σώματος. Ωστόσο στη μελέτη αυτή μόνο 3 από τους 15 εθελοντές εμφάνισαν ενεργοποιημένο φαιό λίπος. Στη μελέτη αυτή η ανίχνευση του φαιού λίπους έγινε με PET/CT αλλά δεν διενεργήθηκαν βιοψίες. Πιθανών να εμφάνιζαν και άλλοι εθελοντές φαιό λίπος αλλά να μην φάνηκε στο PET/CT και αυτό να οδήγησε στην αύξηση της θερμοκρασίας του πυρήνα του σώματος. Ακόμη το αποτέλεσμα αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η θερμοκρασία ήταν κατά μέσο όρο πιο χαμηλή (14,7±2,4ºC) ή στο γεγονός ότι οι συμμετέχοντες ήταν παχύσαρκοι και ενδεχομένως το ποσοστό λίπους στο σώμα να έχει κάποια επίδραση την αντίδραση του οργανισμού κατά την έκθεση στο κρύο. Απαιτούνται να γίνουν στοχευμένες μελέτες προκειμένου να διευκρινιστεί ο ρόλος του φαιού λίπους στη θερμογένεση χωρίς μυϊκή δραστηριότητα στους ενήλικες ανθρώπους.

Το γεγονός ότι η ομάδα HBAT εμφάνισε μεγαλύτερη θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο φαίνεται και από την αύξηση του βασικού μεταβολισμού σε σύγκριση με την ομάδα LBAT κατά την έκθεση στο κρύο. Η ομάδα HBAT εμφάνισε οριακά υψηλότερες τιμές ($p=0,06$) βασικού μεταβολισμού στις 3 ώρες και 45 λεπτά από την έναρξη της μελέτης. Αν και το αποτέλεσμα αυτό είναι ενδεικτικής στατιστικής σημαντικότητας είναι σύμφωνο με το αποτέλεσμα μιας μελέτης στην οποία η ομάδα που εμφάνιζε ενεργοποιημένο φαιό λίπος είχε αυξημένο βασικό μεταβολισμό στατιστικά σημαντικό σε σύγκριση με αυτούς που δεν εμφάνιζαν ενεργοποιημένο φαιό λίπος (65). Η διαφορά όμως αυτή στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήθηκε και κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού.

Όταν συγκρίθηκε ο βασικός μεταβολισμός στην ίδια ομάδα στις θερμοουδέτερες συνθήκες σε σύγκριση με την έκθεση στο κρύο, η διαφορά ήταν οριακά στατιστικά σημαντική μόνον στην ομάδα HBAT (p=0,048) και συγκεκριμένα κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού. Στην ομάδα HBAT στη μέτρηση που έγινε στις 3 ώρες και 45 λεπτά η αύξηση του βασικού μεταβολισμού κατά την έκθεση στο κρύο περιορίζεται σε ενδεικτικής στατιστικής σημαντικότητας (p=0,072). Ωστόσο, φαίνεται να υπάρχει τάση αύξησης του μεταβολισμού και στην ομάδα LBAT κατά την έκθεση στο κρύο στη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού (p=0,114). Αύξηση του μεταβολισμού στην ομάδα με αυξημένο BAT κατά την έκθεση στο κρύο σημειώνεται τόσο στη μελέτη του Yoneshiro (68), όσο και στη μελέτη του Vijgen (65). Στη μελέτη όπου η ομάδα που δεν εμφάνιζε ενεργοποιημένο φαιό λίπος είχε υψηλότερο βασικό μεταβολισμό, οφειλόταν στο γεγονός ότι η ομάδα με το ενεργοποιημένο φαιό λίπος αποτελούνταν μόνο από γυναίκες. Ωστόσο όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω όταν αφαιρέθηκαν οι άνδρες από την ομάδα με την μειωμένη δραστηριότητα φαιού λίπους, οι δύο ομάδες δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική διαφορά στον βασικό μεταβολισμό. (64). Η διαφορά αυτή στα αποτελέσματα μπορεί να οφείλεται στο διαφορετικό σχεδιασμό των δύο μελετών.

Το ποσοστό αύξησης του βασικού μεταβολισμού στην ομάδα HBAT κατά την έκθεση στο κρύο κυμαίνεται από 7% έως και 10% κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού. Η ευγλυκαιμική υπερινσουλιναιμική δοκιμασία ινσουλινικού αποκλεισμού ξεκινάει μετά τις 6 ώρες ήπιας έκθεσης στο κρύο. Η αύξηση αυτή του βασικού μεταβολισμού σε αυτό το στάδιο μπορεί να οφείλεται είτε στην παρατεταμένη έκθεση στο κρύο (πάνω από 6 ώρες) και κατ' επέκταση στον ψυχρό εγκλιματισμό είτε στη δράση της ινσουλίνης. Το γεγονός ότι η ινσουλίνη μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στη θερμογένεση φαίνεται και από την αυξητική τάση του βασικού μεταβολισμού και στην ομάδα LBAT μετά από έκθεση στο κρύο και κατά τη διάρκεια της ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού. Ωστόσο η τάση αυτή είναι ενδεικτικής στατιστικής σημαντικότητας. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η ινσουλίνη αυξάνει την θερμογένεση στο BAT καθώς και την πρόσληψη της γλυκόζης (31). Φαίνεται λοιπόν ότι ο ενεργοποιημένος φαιός λιπώδης ιστός είναι ένας ινσουλινοευαίσθητος ιστός. Ωστόσο δεν είναι ξεκάθαρος ο ρόλος της ινσουλίνης στην ενεργοποίηση του BAT. Απαιτείται περαιτέρω έρευνα δεδομένου ότι η ινσουλίνη είναι μια ορμόνη που επιδρά σε πάρα πολλούς ιστούς. Το γεγονός ότι η μεγαλύτερη αύξηση του μεταβολισμού (10%) παρατηρείται στην ομάδα HBAT κατά την ευγλυκαιμική υπερινσουλιναιμική δοκιμασία ινσουλινικού αποκλεισμού (πάνω από 6 ώρες έκθεσης στο κρύο) σημαίνει ότι ο βασικός μεταβολισμός πιθανών να αυξάνεται λόγω της παρατεταμένης έκθεσης

στο κρύο και του ψυχρού εγκλιματισμού. Ο άνθρωπος και τα πειραματόζωα εγκλιματίζονται στο κρύο όπως αποδείχθηκε σε μια πρόσφατη μελέτη κατά την οποία επιχειρήθηκε να γίνει ψυχρός εγκλιματισμός σε εθελοντές για 10 ημέρες (69). Επίσης σε μια άλλη μελέτη φάνηκε ότι οι εθελοντές εμφάνισαν εγκλιματισμό στο κρύο διότι ο μεταβολισμός τους ήταν αυξημένος κατά τη διάρκεια του χειμώνα σε σχέση με το καλοκαίρι (70). Απαιτούνται παραπάνω έρευνες για να μελετηθούν οι μηχανισμοί ψυχρού εγκλιματισμού στους ενήλικες. Ο ψυχρός εγκλιματισμός είναι μια ελπιδοφόρα μέθοδος ενεργοποίησης και αύξησης της δραστηριότητας του φαιού λιπώδους ιστού με πιθανές ευεργετικές επιπτώσεις για την υγεία.

Σε πολλές μελέτες παρατηρήθηκε αύξηση του βασικού μεταβολισμού κατά την έκθεση στο κρύο η οποία αποδίδεται σε θερμογένεση χωρίς μυϊκό τρόμο και κατ' επέκταση στην ενεργοποίηση του φαιού λίπους (9), (10), (32), (63), (64), (65). Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε στην ομάδα HBAT ποσοστό αύξησης του βασικού μεταβολισμού ήταν από 7% έως 10%. Το αποτέλεσμα αυτό είναι σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες (71), (72). Σε διάφορες μελέτες το ποσοστό κυμαίνεται από 6% (66), (67) μέχρι και 28% (68). Οι διαφορές στο ποσοστό αύξησης του βασικού μεταβολισμού στις παραπάνω μελέτες πιθανόν να οφείλονται στη διαφορά των δειγμάτων που εξετάζονται ή και στο πρωτόκολλο μελέτης που χρησιμοποιείται κάθε φορά. Απαιτούνται περισσότερες μελλοντικές έρευνες πάνω στην θερμογένεση του φαιού λίπους κατά την έκθεση στο κρύο και την αύξηση του βασικού μεταβολισμού.

Αναφορικά με την κλίμακα ASHRAE φάνηκε ότι η HBAT ομάδα εμφάνιζε μεγαλύτερη ανοχή στο κρύο σε σχέση με την ομάδα LBAT αν και τα αποτελέσματα δεν ήταν στατιστικά σημαντικά. Σε μία μελέτη ψυχρού εγκλιματισμού για 10 ημέρες φάνηκε ότι οι εθελοντές έκριναν το περιβάλλον όπου διεξάγονταν η δοκιμασία ότι ήταν πιο ζεστό και πιο άνετο σε σχέση με την αρχή της μελέτης καθώς επίσης και ότι εμφάνιζαν λιγότερο μυϊκό τρόμο (69). Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι μια ήπια πτώση της θερμοκρασίας στους χώρους όπου ζει και εργάζεται ο σύγχρονος άνθρωπος πιθανόν να βοηθούσε ανθρώπους που εμφανίζουν ενεργοποιημένο φαιό λίπος να αυξήσουν το μεταβολισμό τους χωρίς να αισθάνονται δυσφορία. Πριν όμως χρησιμοποιηθεί η έκθεση στο κρύο και κατ' επέκταση η ενεργοποίηση του BAT ως μέσο πρόληψης ή και θεραπείας θα πρέπει να απαντηθούν πολλά ερωτήματα όπως για παράδειγμα για πόσο χρονικό διάστημα θα πρέπει να γίνεται η έκθεση στο κρύο, σε ποιες θερμοκρασίες, σε ποιούς ανθρώπους μπορεί να εφαρμοστεί και τι συνέπειες έχει σε σχέση με την όρεξη και την πρόσληψη φαγητού. Ωστόσο επειδή η εκτίμηση του κρύου είναι υποκειμενική, υπάρχει πιθανότητα πολλοί άνθρωποι να βρίσκουν δυσάρεστη ακόμη και την ήπια μείωση της θερμοκρασίας. Για το λόγο αυτό ίσως να ήταν πιο αποδοτικό να μειώνεται ήπια η θερμοκρασία για κάποιες ώρες της ημέρας. Στην παρούσα μελέτη φάνηκε ότι έκθεση για περίπου 3 ώρες και

45 λεπτά στους 19 ºC αυξάνει το μεταβολισμό έως και 7% στα άτομα που εμφανίζουν φαιό λίπος.

Ο φαιός λιπώδης ιστός έχει ως κύρια αποστολή τη θερμορρύθμιση στα θηλαστικά και στα νεογνά των ανθρώπων και φαίνεται ότι, αν και φθίνει με την ηλικία, διαθέτει την ικανότητα θερμογένεσης, αλλά και αύξησής του ως αποτέλεσμα προσαρμογής του στις συνθήκες του περιβάλλοντος. Η μεγάλη οξειδωτική ικανότητά του – απόρροια των πολυάριθμων μιτοχονδρίων που περιέχουν τα κύτταρα του- μαζί με τη δυνατότητα για αποσύζευξη της καύσης των τροφών από την παραγωγή ενέργειας και απελευθέρωσή της ως θερμότητα δημιουργεί εύλογες προσδοκίες για μελλοντικές θεραπείες κατά της παχυσαρκίας και των μεταβολικών νοσημάτων. Σύμφωνα με την παρούσα μελέτη η συμβολή του φαιού λιπώδους ιστού στο μεταβολικό ρυθμό μετά από έκθεση στο κρύο είναι περίπου 10%. Δηλαδή γύρω στις 250 θερμίδες για έναν άνθρωπο που χρειάζεται 2500 θερμίδες για διατήρηση του σωματικού του βάρους. Δε θα ήταν λοιπόν υπερβολή να υποστηριχτεί ότι μακροπρόθεσμα μπορούν να υπάρξουν αποτελέσματα στη μείωση του σωματικού βάρους λόγω της ενεργοποίησης του φαιού λίπους. Όλο και περισσότερες μελέτες προσπαθούν να ελέγξουν αυτές τις θεωρητικές προσεγγίσεις στην πράξη, αφού υπάρχουν ακόμα πολλά ερωτήματα που ζητούν πειστικές απαντήσεις. Κάποια από αυτά είναι το αν, πώς και κατά πόσο είναι εφικτή η αύξηση της μάζας και της δραστηριότητας του φαιού λιπώδους ιστού στους ανθρώπους, πώς μπορεί να επιτευχθεί και πόσο μπορεί να διαρκέσει η μετατροπή των λευκών σε φαιά λιποκύτταρα στο λευκό λιπώδη ιστό και πώς γενικά μπορεί να επιταχυνθεί η απομάκρυνση της γλυκόζης και των τριγλυκεριδίων από το αίμα με την καύση τους στα φαιά λιποκύτταρα.

Η έκθεση στο κρύο είναι ο πιο αποτελεσματικός τρόπος ενεργοποίησης του φαιού λιπώδους ιστού, ενώ πολλές ουσίες μπορούν να αυξήσουν με διάφορους μηχανισμούς τη μάζα και την δραστηριότητά του. Ωστόσο η ύπαρξη σημαντικών παρενεργειών ή η απουσία πειστικών κλινικών ενδείξεων για αξιολογήσιμη απώλεια λίπους, καθιστά προς το παρόν πρακτικά ανεφάρμοστες κάποιες από τις προτεινόμενες λύσεις. Η ανακάλυψη ορμονών που επάγουν τη φαιοποίηση του λευκού λιπώδους ιστού δημιουργεί νέες προσδοκίες.

Η παρούσα μελέτη έχει κάποιους περιορισμούς που σχετίζονται κυρίως με το μικρό μέγεθος δείγματος και την παρουσία σχεδόν μόνο υπέρβαρων ατόμων στο δείγμα, γεγονός που οδηγεί σε μείωση της στατιστικής ισχύος, αλλά και την απώλεια πληροφοριών για τα άτομα με φυσιολογικό δείκτη μάζας σώματος. Ωστόσο, τα ευρήματα συνηγορούν στην αύξηση του μεταβολισμού σε άτομα με ενεργοποιημένο φαιό λιπώδη ιστό όταν εκτίθενται στο κρύο.

Συμπερασματικά η ενεργοποίηση του φαιού λίπους μέσω της έκθεσης στο κρύο μπορεί να αποτελεί μια οικολογική παρέμβαση για την θεραπεία της παχυσαρκίας. Η ήπια έκθεση στο

κρύο για λίγες ώρες μέσα στην ημέρα φαίνεται να είναι μια πολλά υποσχόμενη λύση για την αύξηση του μεταβολισμού και είναι καλά ανεκτή σε ανθρώπους που εμφανίζουν ενεργοποιημένο BAT. Ωστόσο πρέπει να ερευνηθούν πολλά ερωτήματα όπως ο χρόνος, η διάρκεια καθώς και πόσο πρέπει να εκτεθούν στο κρύο για να ενεργοποιήσουν το φαιό λίπος οι άνθρωποι που είναι υπέρβαροι ή παχύσαρκοι και που φαίνεται ότι έχουν μειωμένο BAT και ωστόσο έχουν πιο πολύ ανάγκη για αύξηση του μεταβολισμού τους και κατ' επέκταση για απώλεια βάρους.

6. Βιβλιογραφία

1. **Rosen ED, Spiegelman BM.** Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature.* 2006, 444, pp. 847-853.

2. **Lowell BB, Spiegelman BM.** Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature.* 2000, 404, pp. 652-660.

3. **Tseng YH, Cypess AM, Kahn CR.** Cellular bioenergetics as a target for obesity therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2010, 9, pp. 465-482.

4. **Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, Kuo FC, Palmer EL, Tseng YH, Doria A, Kolodny GM, Kahn CR.** Identification and Importance of Brown Adipose Tissue in Adult Humans. *N Engl J Med. 2009;360(15):1509-17.* σσ. 360:1509-1517.

5. **Cannon B, Nedergaard J.** Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.* 2004, 84, pp. 277-359.

6. **Lean ME, James WP, Jennings G, Trayhurn P.** Brown adipose tissueuncoupling protein content in human infants and adults. *Clin Sci.* 1986, 71, pp. 291-297.

7. **Zingaretti MC, Crosta F, Vitali A,Guerrieri M,Frontini A,Cannon B,Nedergaard J, Cinti S.** The presence of UCP1 demonstates that metabolically active adipose tissue in the neck of adult humans truly represents brown adipose tissue. *FASEB J.* 2009, σσ. 23:3113-3120.

8. **Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, Heglind M, Westergren R, Niemi T, Taittonen M, Laine J, Savisto NJ, Enerback S, Nuutila P.** Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med.* 2009, σσ. 360: 1518-1525.

9. **van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommerig JW, Smulders NM, Drossaerts JM, Kamerink GJ, Bouvy ND, Schrauwen P, Teule GJ.** Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N Engl J Med. 2009;360(15):1500-8.*

10. **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.** High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: effects of cold exposure and adiposity. *Diabetes.* 2009, 58:1526-1531.

11. **Enerback S.** Human brown adipose tissue. *Cell Metab.* 2010, 11: 248-252.

12. **Rosenbaum M, Leibel RL.** Adaptive thermogenesis in humans. *Int J Obes (Lond).* 2010, 34 (Suppl 1): S47-S55.

13. **Ravussin E, Galgani JE.** The implication of brown adipose tissue for humans. *Annu Rev Nutr.* 2011, 31:33-47.

14. **KR, Westerterp.** Physical activity, food intake and body weight regulation: insights from doubly labeled water studies. *Nutr Rev.* 2010, 68:148-154.

15. **CR, Hankey.** Session 3 (Joint with the British Dietetic Association): Management of obesity: Weight loss interventions in the treatment of obesity. *Proc Nutr Soc.* 2010, 69: 34-38.

16. **van marken Lichtenbelt WD, Schrauwen P, van de Kerckhove S, Westerterp-Plantenga MS.** Individual variation in body temperature and energy expenditure in response to mild cold. *Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002;282(5):E1077-83.*

17. **Vallerand AL, Frim J, Kavanagh MF.** Plasma glucose and insulin responses to oral and intravenous glucose in cold-exposed humans. . *J Appl Physiol.* 1988, 65(6):2395-2399.

18. **McAliister EJ, Dhurandhar NV, Keith SW, Aronne LJ, Barger J Baskin M, Benca RM, Biggio J, Boggiano MM, Eisenmann JC, Elobeid M, Fontaine KR, Gluckman P, Hanlon EC, Katzmarzyk P, Pietrobeli A, Redden DT, Ruden DM, Wang C et al.** Ten putative contributors to the obesity epidemic. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2009, 49:868-913.

19. **van Marken Lichtenbelt WD, Schrauwen P.** Implications of nonshivering thermogenesis for energy balance regulation in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2011;301(2):285-96.*

20. **Tseng YH, Cypess AM, Kahn CR.** Cellular bioenergetics as a target for obesity therapy. *Nat Rev Drug Discov. 2010;9(6):465-82.*

21. **M., Klingenspor.** Cold-induced recruitment of brown adipose tissue thermogenesis. *Exp Physiol. 2003;88(1):141-8.*

22. **Bronnikov G, Bengtsson T, Kramarova L, Golozoubova V, Cannon B, Nedergaard J.** beta1 to beta3 switch in control of cyclic adenosine monophosphate during brown adipocyte development explains distinct beta-adrenoceptor subtype mediation of proliferation and differentiation. *Endocrinology. 1999;140(9):4185-97.*

23. **Diaz MB, Herzig S, Vegiopoulos A.** Thermogenic adipocytes: From cells to physiology and medicine. *Metabolism. 2014. pii: S0026-0495(14)00197-8.* .

24. **Townsend K, Yu-Hua Tseng.** Brown adipose tissue. Recent insights into develppment, metabolic function and therapeutic potential. *Adipocyte.* 2012;1: 13-24.

25. **SF., Morrison.** 2010 Carl Ludwig Distinguished Lectureship of the APS Neural Control and Autonomic Regulation Section: Central neural pathways for thermoregulatory cold defense. *J Appl Physiol.* 2011; 110: 1137-1149.

26. **Himms-Hagen, J.** Does brown adipose tissue (BAT) have a role in the physiology or treatment of human obesity? *Rev Endocr Metab Disord.* 2001, σσ. 2:395-401.

27. **Brondani LA, Assmann TS, Duarte GC, Gross JL, Canani LH, Crispim D.** The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metabol. 2012;56(4):215-25.*

28. **JE, Silva.** Physiological importance and control of non shivering facultative thermogenesis. *Front Biosci (Schol Ed).* 2011; 3: 352-371.

29. **Martinez dM, Scanlan TS, Obregon MJ.** The T3 receptor beta1 isoform regulates UCP1 and D2 deiodinase in rat brown adipocytes. *Endocrinology* . 2010; 151: 5074-5083.

30. **Rothwell NJ, Stock MJ.** Insulin and thermogenesis. *Int J Obes. 1988;12:93-102.*

31. **Virtanen KA, van Marken Lichtenbelt WD, Nuutila P.** Brown adipose tissue functions in humans. *Biochim Biophys Acta. 2013;1831:1004-8.*

32. **Orava J, Nuutila P, Lidell ME et al.** Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin. *Cell Metab. 2011;14:272-9.*

33. **Vitali A, Murano I,Zingaretti MC.** The adipose organ of obesity-prone C57BL/6J mice is composed of mixed white and brown adipocytes. *J Lipid Res.* 2012;53(4): 619–629.

34. **Chechi K, Nedergaad J, Richard D.** Etiology and Pathohysiology.Brown adipose tissue as an anti-obesity tissue in humans. *Obes rev.* 2014;15(2):92-106.

35. **Ishibashi J, Seale P.** Beige can be slimming. *Science.* 2010; 328(5982): 1113–1114. .

36. **Wu J, Boström P, Sparks LM et al.** Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell.* 2012;150(2):366-376.

37. **Petrovic N, Walden TB, Shabalina IG, Timmons JA, Cannon B, Nedergaard J.** Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocyt. *J Biol Chem.* 2010;285(10):7153-7164.

38. **Harms M, Seale P.** Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat Med.* . 2013;19(10):1252-63.

39. **Jun Wu, Paul Cohen,and Bruce M. Spiegelman.** Adaptive thermogenesis in adipocytes: Is beige the new brown? *Genes Dev.2013; 27(3): 234–250.*

40. **Bartelt A, Heeren J.** Adipose tissue browning and metabolic health. *Nat Rev Endocrinol. 2014;10(1):24-36.*

41. **Timmons JA, Wennmalm K, Larsson O et al,.** Myogenic gene expression signature establishes that brown and white adipocytes originate from distinct cell lineages. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:4401-4406.

42. **Seale P, Bjork B, Yang W et al.,.** PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature. 2008;454(7207):961-7.*

43. **Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, Cohen P, Cinti S, Spiegelman BM.** Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. *J Clin Invest. 2011;121(1):96-105.* .

44. **Wang QA, Tao C, Gupta RK, Scherer PE.** Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nat Med. 2013;19(10):1338-44.*

45. **Cypess AM, Kahn CR.** Brown fat as a therapy for obesity and diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2010;17(2):143-9.*

46. **Lidell ME, Betz MJ, Dahlqvist Leinhard O et al.,.** Evidence for two types of brown adipose tissue in humans. *Nat Med. 2013;(19) 631-4* .

47. **Cypess AM, White AP, Vernochet C et al.,.** Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat. *Nat Med. 2013;19(5):635-9.*

48. **Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B.** Three years with adult human brown adipose tissue. *Ann N Y Acad Sci. 2010;1212:E20-36.*

49. **Boström P, Wu J, Jedrychowski MP et al.,.** A PGC1-α-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature. 2012;481(7382):463-8.*

50. **Kharitonenkov A, Shiyanova TL, Koester A et al.,.** FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J. Clin. Invest. 115 (6): 1627–35.*

51. **Fisher FM, Kleiner S, Douris N et al.,.** FGF21 regulates PGC-1α and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes Dev. 2012;26(3):271-81.*

52. **Bordicchia M1, Liu D, Amri EZ, Ailhaud G, Dessì-Fulgheri P, Zhang C, Takahashi N, Sarzani R, Collins S.** Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. *J Clin Invest. 2012;122(3):1022-36.* .

53. **Andrew J. Whittle, Stefania Carobbio, Luís Martins wt al.,.** BMP8B Increases Brown Adipose Tissue Thermogenesis through Both Central and Peripheral Actions. *Cell. 2012; 149(4): 871–885.*

54. **Lee P, Zhao JT, Swarbrick MM, Gracie G, Bova R, Greenfield JR, Freund J, Ho KK.** High prevalence of brown adipose tissue in adult humans. *J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(8):2450-5.*

55. **Ouellet V, Routhier-Labadie A, Bellemare W, Lakhal-Chaieb L, Turcotte E, Carpentier AC, Richard D.** Outdoor temperature, age, sex, body mass index, and diabetic status determine the prevalence, mass, and glucose-uptake activity of 18F-FDG-detected BAT in humans. *J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(1):192-9.*

56. **Lee P, Greenfield JR, Ho KK, Fulham MJ.** A critical appraisal of the prevalence and metabolic significance of brown adipose tissue in adult humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab. 2010;299(4):E601-6.*

57. **Tam CS, Lecoultre V, Ravussin E.** Brown adipose tissue: mechanisms and potential therapeutic targets. *Circulation. 2012;125(22):2782-91.*

58. **Pfannenberg C, Werner MK, Sabine Ripkens S. et al.,.** Impact of Age on the Relationships of Brown Adipose Tissue With Sex and Adiposity in Humans. *Diabetes. 2010; 59(7): 1789–1793.*

59. **Rodriguez AM, Monjo M, Roca P, Palou A.** Opposite actions of testosterone and progesterone on UCP1 mRNA expression in cultured brown adipocytes. *Cell Mol Life Sci. 2002;59(10):1714-23.*

60. **Pace L, Nicolai E, D'Amico D, Ibello F, Della Morte AM, Salvatore B, Pizzuti LM, Salvatore M, Soricelli A.** Determinants of physiologic 18F-FDG uptake in brown adipose tissue in sequential PET/CT examinations. *Mol Imaging Biol. 2011;13(5):1029-35.*

61. **Lecoultre V, Ravussin E.** Brown adipose tissue and aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2011;14(1):1-6.*

62. **Vallerand AL, Zamecnik J, Jones PJ, Jacobs I.** Cold stress increases lipolysis, FFA Ra and TG/FFA cycling in humans. *Aviat Space Environ Med. 1999;70(1):42-50.*

63. **Ouellet V, Labbé SM, Blondin DP, Phoenix S, Guérin B, Haman F, Turcotte EE, Richard D, Carpentier AC.** Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. *J Clin Invest. 2012;122(2):545-52.*

64. **Muzik O, Mangner TJ, Granneman JG.** Assessment of oxidative metabolism in brown fat using PET imaging. *Front Endocrinol (Lausanne). 2012;3:15. .*

65. **Vijgen GH, Bouvy ND, Teule GJ, Brans B, Schrauwen P, van Marken Lichtenbelt WD.** Brown adipose tissue in morbidly obese subjects. *PLoS One. 2011;6(2):e17247.*

66. **Francesco S Celi, Robert J Brychta, Joyce D Linderman et al.,.** Minimal changes in environmental temperature result in a significant increase in energy expenditure and changes in the hormonal homeostasis in healthy adults. *Eur J Endocrinol. 2010;163(6):863-872.*

67. **Kong Y. Chen, Robert J. Brychta, Joyce D. Linderman et al.,.** Brown Fat Activation Mediates Cold-Induced Thermogenesis in Adult Humans in Response to a Mild Decrease in Ambient Temperature. *J Clin Endocrinol Metab.2013; 98(7): E1218–E1223. .*

68. **Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, Kameya T, Nakada K, Kawai Y, Saito M.** Brown adipose tissue, whole-body energy expenditure, and thermogenesis in healthy adult men. *Obesity (Silver Spring). 2011;19(1):13-6.*

69. **Anouk A.J.J. van der Lans, Joris Hoeks, Boudewijn Brans et al.,.** Cold acclimation recruits human brown fat and increases nonshivering thermogenesis. *J Clin Invest.2013; 123(8): 3395–3403.*

70. **van Ooijen AM, van Marken Lichtenbelt WD, van Steenhoven AA, Westerterp KR.** Seasonal changes in metabolic and temperature responses to cold air in humans. *Physiol Behav. 2004;82(2-3):545-53.*

71. **Claessens-van Ooijen AM, Westerterp KR, Wouters L, Schoffelen PF, van Steenhoven AA, van Marken Lichtenbelt WD.** Heat production and body temperature during cooling and rewarming in overweight and lean men. *Obesity (Silver Spring). 2006;14(11):1914-20.*

72. **Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, Okamatsu-Ogura Y, Kameya T, Kawai Y, Miyagawa M, Tsujisaki M, Saito M.** Age-related decrease in cold-activated brown adipose tissue and accumulation of body fat in healthy humans. *Obesity (Silver Spring). 2011;19(9):1755-60.*

73. Standards of Medical Care in Diabetes—2013. *Diabetes Care 2013; 36 Suppl 1:S11-66.*

74. **Haman F, Péronnet F, Kenny GP, Massicotte D, Lavoie C, Scott C, Weber JM.** Effect of cold exposure on fuel utilization in humans: plasma glucose, muscle glycogen, and lipids. *J Appl Physiol. 2002;93(1):77-84.*

75. International Organization for Standarization (ISO). Ergonomics- Evaluation of thermal strain by physiological measurements. *ISO 9886:2004 ed.*

76. **Borel AL, Nazare JA, Smith J, Alméras N, Tremblay A, Bergeron J, Poirier P, Després JP.** Visceral and not subcutaneous abdominal adiposity reduction drives the benefits of a 1-year lifestyle modification program. *Obesity (Silver Spring). 2012;20(6):1223-33.*

77. **Ferland M, Després JP, Tremblay A, Pinault S, Nadeau A, Moorjani S, Lupien PJ, Thériault G, Bouchard C.** Assessment of adipose tissue distribution by computed axial tomography in obese women: association with body density and anthropometric measurements. *Br J Nutr. 1989;61(2):139-48.*

78. **Paré A, Dumont M, Lemieux I, Brochu M, Alméras N, Lemieux S, Prud'homme D, Després JP.** Is the relationship between adipose tissue and waist girth altered by weight loss in obese men? *Obes Res. 2001;9(9):526-34.*

79. **Børsheim E, Kien CL, Pearl WM.** Differential effects of dietary intake of palmitic acid and oleic acid on oxygen consumption during and after exercise. *Metabolism. 2006;55:1215-21.*

80. **Smorlesi A, Frontini A, Giordano A, Cinti S.** The adipose organ: white-brown adipocyte plasticity and metabolic inflamation. *obesity reviews.* 2012; 13: 83-96.

81. **S, Cinti.** The adipose organ at a glance. *Dis Model Mech.* 2012;5:588-594.

82. **Frontini A, Cinti S.** Distribution and development of brown adipocytes in the murine and human adipose organ. *Cell Metab* . 2010;11:253-256.

83. **Timmons JA, Wennmalm K, Larsson O.** Myogenic gene expression signature establishes that brown and white adipocytes originate from distinct cell lineages. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(11):4401-6.