



Fakultät für Medizin

Der Effekt des GNB3 C825T- Polymorphismus auf die kälteinduzierte Thermogenese beim Menschen

Gotthard Gabriel Seidl

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin (Dr. med.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Marcus Makowski

Prüfende der Dissertation:

1. Prof. Dr. Johann J. Hauner
2. Prof. Dr. Franz Schilling

Die Dissertation wurde am 14.04.2021 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 04.01.2022 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	7
1. Einleitung	9
1.1 Adipositas	9
1.1.1 Definition und Klassifikation von Übergewicht und Adipositas.....	9
1.1.2 Ursachen von Übergewicht und Adipositas	9
1.1.3 Verbreitung und Kosten der Adipositas.....	10
1.1.4 Komorbiditäten und Komplikationen	11
1.1.5 Mortalität und Lebenserwartung	11
1.1.6 Therapie von Übergewicht und Adipositas	11
1.2 GNB3.....	12
1.2.1 G-Protein-vermittelte Signaltransduktion.....	12
1.2.1.1 Grundlegender Mechanismus	12
1.2.1.2 Aufbau des Rezeptors	13
1.2.1.3 Aufbau und Wirkungsweise der heterotrimeren G-Proteine .	13
1.2.1.4 Effektormoleküle	14
1.2.2 GNB3-Genstruktur und molekularer Aufbau der β -Untereinheit ..	14
1.2.3 Der GNB3 C825T-Polymorphismus.....	15
1.2.3.1 Definition: Genetischer Polymorphismus.....	16
1.2.3.2 Struktureller Einfluss des GNB3 C825T-Polymorphismus.....	16
1.2.3.3 Globale Verteilung des 825T-Allels.....	17
1.2.3.4 Klinische Korrelate des GNB3 C825T-Polymorphismus.....	17
1.2.4 Weitere Polymorphismen	18
1.3 Braunes Fettgewebe	18

1.3.1	Grundlegendes.....	19
1.3.2	Aufbau.....	19
1.3.3	Vorkommen.....	20
1.3.4	Funktion.....	20
1.3.4.1	Überblick.....	20
1.3.4.2	Regulierung durch Noradrenalin	21
1.3.4.3	Aktivierung von UCP1 durch Lipolyse	22
1.3.4.4	Das Leben des braunen Adipozyten	24
1.3.4.5	Thermoregulatorische Thermogenese	24
1.3.4.6	Metaboloregulatorische Thermogenese	25
1.3.4.7	Stoffaufnahme und Clearance	25
1.3.5	Beige Fettzellen.....	26
1.4	Anpassung an Kältebelastung	27
2.	Problemstellung.....	28
3.	Material & Methodik	29
3.1	Klinische Studie	29
3.1.1	Teilnehmende und Grundlagen	29
3.1.2	Untersuchungsablauf.....	32
3.1.2.1	Ernährungsprotokoll	33
3.1.2.2	Stuhlprobe	33
3.1.2.3	Körperliche Aktivität, Koffein- und Kalorienzufuhr.....	34
3.1.2.4	Anamnesebogen.....	34
3.1.2.5	Anthropometrie, Bioimpedanzanalyse und physiologische Messungen.....	34
3.1.2.6	Temperaturmessungen	36
3.1.2.7	Individualisiertes Kühlprotokoll.....	38

3.1.2.8	Indirekte Kalorimetrie	38
3.1.2.9	Blutentnahmen	40
3.2	Laboranalysen.....	41
3.2.1	Externe Laboranalysen	41
3.2.2	Interne Laboranalysen	42
3.2.2.1	NEFA	43
3.2.2.2	Insulin	44
3.2.2.3	Adiponectin und Leptin	45
3.2.2.4	Genotypisierung.....	47
3.3	Statistische Auswertung	49
4.	Ergebnisse.....	51
4.1	Baseline-Charakteristika der Studienteilnehmenden.....	51
4.2	Genotypisierung	52
4.3	Ernährungsprotokoll	52
4.4	Anamnesebogen	53
4.5	Physiologische Messungen	55
4.6	Temperaturmessungen	56
4.7	Individualisiertes Kühlprotokoll	59
4.8	Indirekte Kalorimetrie	59
4.9	Laborwerte.....	60
4.10	Assoziationen zur kälteinduzierten Thermogenese	62
4.11	Zusammenfassung der Ergebnisse	64
5.	Diskussion.....	67
5.1	Verteilung der Genotypen.....	67
5.2	Das 825T-Allel und BMI.....	67
5.3	Das 825T-Allel und Blutdruck.....	70

5.4	Das 825T-Allel und kälteinduzierte Thermogenese.....	71
5.5	Das 825T-Allel und Kalium	75
5.6	Ernährungsprotokoll und Anamnesebogen.....	76
5.7	Abfall der Herzfrequenz	76
5.8	Temperaturmessungen	77
5.9	Individualisiertes Kühlprotokoll und Toleranztemperatur.....	79
5.10	Abfall des respiratorischen Quotienten	80
5.11	Metabolische und hormonelle Veränderungen nach Kälteexposition 80	
5.12	Genotypisierung des GNB3 C825T-Polymorphismus in Zusammenhang mit der Therapie von Adipositas durch die Aktivierung von braunem Fettgewebe	83
6.	Zusammenfassung	86
	Literaturverzeichnis	88
	Anhang.....	96
	Danksagung.....	173

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body-Mass-Index
BSA	Bovines Serumalbumin
C	Cytosin
Ca ²⁺	Kalzium
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CRP	C-reaktives Protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRKS	Deutsches Register Klinischer Studien
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMG	Elektromyografie
¹⁸ F-FDG	Fluordesoxyglucose
FREECE	Effect of the FTO-Genotype on Resting Energy Expenditure after defined Cold Exposure
FTO-Gen	Fat mass and obesity-associated gene
G	Guanin
GDP	Guanosindiphosphat
GNB3	G-Protein β3-Untereinheit
γ-GT	γ-Glutamyl-Transferase
GTP	Guanosintriphosphat
GU	Grundumsatz
HF	Herzfrequenz
HRP	Meerrettichperoxidase
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure

IQR	Interquartilsabstand
K ⁺	Kalium
kb	Kilobasen
KE	Kälteexposition
KIT	Kälteinduzierte Thermogenese
<i>n</i>	Anzahl
N.	Nervus
<i>n.s.</i>	Nicht signifikant
Na ⁺	Natrium
NEFA	Non-esterified fatty acids, freie Fettsäuren
O ₂	Sauerstoff
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PET/CT	Kombination aus Positronen-Emissions-Tomographie und Computertomographie
R ²	Bestimmtheitsmaß
rcf	Relative Centrifugal Force
RMR	Ruheenergieverbrauch
RQ	Respiratorischer Quotient
RR	Blutdruck
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SOP	Standard Operating Procedure
T	Thymin
T ₃	Triiodthyronin
TN	Thermoneutralität
TSH	Thyreoida-stimulierendes Hormon
UCP ₁	Uncoupling Protein 1, Thermogenin
WHO	Weltgesundheitsorganisation, World Health Organization

1. Einleitung

1.1 Adipositas

Adipositas ist eine chronische Krankheit, die zu einer eingeschränkten Lebensqualität und hohem Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko führt. Sie erfordert eine langfristige Betreuung. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) spricht gar von einer Epidemie. (WHO 2000)

Nachfolgend sei überblicksartig auf ihre Klassifikation, Ursachen und epidemiologische Aspekte sowie ihre Komplikationen und mögliche Therapieoptionen eingegangen.

1.1.1 Definition und Klassifikation von Übergewicht und Adipositas

Adipositas wird gemeinhin definiert als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts. Beurteilungsgrundlage für die Gewichtsklassifikation ist der Body-Mass-Index (BMI). Der BMI ist der Quotient aus Gewicht und Körpergröße zum Quadrat (kg/m^2). Übergewicht ist definiert als $\text{BMI} \geq 25 - 29,9 \text{ kg/m}^2$, Adipositas als $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ (s. **Tab. 1**). (WHO 2000)

Tab. 1: Klassifikation der Adipositas bei Erwachsenen gemäß dem BMI (modifiziert nach WHO 2000)

Kategorie	BMI
Untergewicht	$< 18,5$
Normalgewicht	$18,5 - 24,9$
Übergewicht	$25 - 29,9$
Adipositas	≥ 30
Adipositas Grad I	$30 - 34,9$
Adipositas Grad II	$35 - 39,9$
Adipositas Grad III	≥ 40

Abkürzungen: BMI=Body-Mass-Index

1.1.2 Ursachen von Übergewicht und Adipositas

Wabitsch et al. (2014) nennen eine Reihe von Risikofaktoren, die mit Übergewicht und Adipositas assoziiert sind. Die zwei Hauptfaktoren sind dabei familiäre Disposition/genetische Ursachen und Lebensstil (z.B.

Bewegungsmangel, Fehlernährung). Weitere Faktoren, die zu Übergewicht und Adipositas führen können, sind:

- Ständige Verfügbarkeit von Nahrung
- Schlafmangel
- Stress
- Depressive Erkrankungen
- Niedriger Sozialstatus
- Essstörungen (z.B. Binge-Eating-Disorder, Night-Eating-Disorder)
- Endokrine Erkrankungen (z.B. Hypothyreose, Cushing-Syndrom)
- Medikamente (z.B. Antidepressiva, Neuroleptika, Antiepileptika, bestimmte Antidiabetika (Insulin, Sulfonylharnstoffe), Glukokortikoide, einige Kontrazeptiva, Betablocker)
- Andere Ursachen (z.B. Immobilisierung, Schwangerschaft, Nikotinverzicht)

1.1.3 Verbreitung und Kosten der Adipositas

Die Messdaten aus der ersten Welle der „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (2008–2011) liefern folgende Ergebnisse: Unter den 18- bis 79-Jährigen in der Bevölkerung sind 67,1 % der Männer und 53,0 % der Frauen übergewichtig. Die Adipositasprävalenz beträgt aktuell 23,3 % bei Männern und 23,9 % bei Frauen. Obwohl die Übergewichtsprävalenz insgesamt nicht zugenommen hat, ist ein deutlicher Anstieg der Adipositasprävalenz zu beobachten. Der Anteil adipöser Männer hat in allen Altersgruppen, insbesondere bei den Jüngeren zugenommen. Mit steigendem sozioökonomischen Status nimmt die Adipositasprävalenz bei Männern und Frauen ab. (Kurth 2012)

Übergewicht und Adipositas stellen eine hohe finanzielle Belastung für das Gesundheitswesen dar. Vor allem für die Behandlung von Folgeerkrankungen müssen jährliche Ausgaben in Höhe von ca. 15 Mrd. € aufgebracht werden. (Knoll 2008)

1.1.4 Komorbiditäten und Komplikationen

Tab. 2 gibt einen knappen Überblick über das relative Risiko für die Entstehung einzelner Adipositas-assoziiierter Krankheiten.

Tab. 2: Risiko für Morbidität bei Adipositas (modifiziert nach WHO 2000)

Risiko > 3-fach erhöht	Risiko 2 – 3-fach erhöht	Risiko 1 – 2-fach erhöht
• Diabetes mellitus	• Koronare Herzkrankheit	• Karzinome
• Cholezystolithiasis	• Hypertonie	• Polyzystisches Ovar-Syndrom
• Dyslipidämie	• Gonarthrose	• Koxarthrose
• Insulinresistenz	• Gicht	• Rückenschmerzen
• Fettleber	• Refluxösophagitis	• Infertilität
• Schlaf-Apnoe-Syndrom		• Fetopathie

1.1.5 Mortalität und Lebenserwartung

Das geringste Sterblichkeitsrisiko weisen Männer und Frauen mit einem BMI von 22,5 – 24,9 auf. Das Sterblichkeitsrisiko ist bei gesunden Nichtraucher:innen bei Übergewicht (BMI 25 – 29,9) um 15 %, bei Adipositas Grad I (BMI 30 – 34,9) um 44 %, bei Adipositas Grad II (BMI 35 – 39,9) um 97 % und bei Adipositas mit einem BMI 40 – 49,9 um 173 % im Vergleich zu Personen mit einem BMI < 25,0 erhöht. (Berrington de Gonzalez et al. 2010)

1.1.6 Therapie von Übergewicht und Adipositas

Die Indikation zur Therapie wird abhängig vom BMI und der Körperfettverteilung unter Berücksichtigung von Komorbiditäten, Risikofaktoren und Patient:innenpräferenzen gestellt. Zum Basisprogramm jedes Gewichtmanagements gehört eine Kombination aus Ernährungs-, Bewegungs- und Verhaltenstherapie. Ziel ist neben der Gewichtsreduktion auch eine langfristige Stabilisierung des Gewichtsverlustes. Eine adjuvante medikamentöse Therapie kommt erst zum Einsatz, wenn durch Lebensstiländerungen keine oder eine unzureichende Gewichtsabnahme erzielt wird. Mittel der Wahl ist Orlistat, das im Gastrointestinalbereich Lipasen hemmt und dadurch die Resorption von Fetten reduziert. Bei Versagen der

konservativen Therapie sollte als Ultima ratio die bariatrische Chirurgie erwogen werden. (Wabitsch et al. 2014)

1.2 GNB3

Wie bereits angedeutet, gibt es genetische Ursachen für die Entwicklung von Adipositas. Ein solcher Faktor, für den ein Effekt auf das Körpergewicht diskutiert wird, ist die G-Protein $\beta 3$ -Untereinheit (GNB3).

1.2.1 G-Protein-vermittelte Signaltransduktion

Die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren bilden mit ca. 800 verschiedenen Proteinen die größte Rezeptorfamilie. Sie sind universelle Rezeptoren. (Rassow et al. 2012, S. 535)

Im Folgenden werden der grundlegende Signaltransduktionsmechanismus, der Aufbau der Rezeptoren, Aufbau und Wirkungsweise der heterotrimeren G-Proteine sowie ihre Effektormoleküle kurz vorgestellt.

1.2.1.1 Grundlegender Mechanismus

Nach Rassow et al. (2012) besteht die Signalkette G-Protein-gekoppelter Rezeptoren aus drei Teilen: Rezeptor, heterotrimeres G-Protein und Effektormolekül (s. **Abb. 1**).

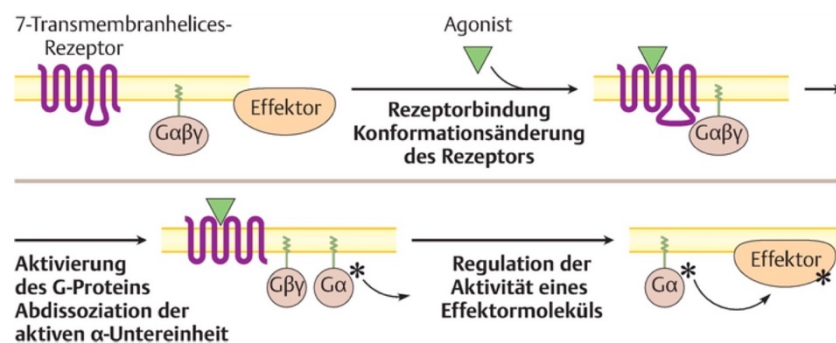


Abb. 1: Schematische Darstellung der G-Protein-vermittelten Signaltransduktion (Rassow et al. 2012, S. 536)

Abkürzungen: G $\alpha\beta\gamma$ =heterotrimeres G-Protein

1.2.1.2 *Aufbau des Rezeptors*

G-Protein-gekoppelte Rezeptoren enthalten sieben Transmembranhelices. Während der N-Terminus des Proteins extrazellulär liegt, befindet sich der C-Terminus auf der zytosolischen Seite. Bindet nun ein Ligand an extrazelluläre Bereiche des Rezeptors oder in einer Tasche zwischen den Helices, kommt es zu einer Konformationsänderung des Rezeptors, sodass eine hochaffine Bindungsstelle für das heterotrimere G-Protein geschaffen wird (s. Abb. 1). (Rassow et al. 2012, S. 535)

1.2.1.3 *Aufbau und Wirkungsweise der heterotrimeren G-Proteine*

Die heterotrimeren G-Proteine bestehen aus drei Untereinheiten: Die α -Untereinheit bindet im inaktiven Zustand Guanosindiphosphat (GDP) und im aktiven Zustand Guanosintri-phosphat (GTP; diese Bindung verleiht den sog. Guaninnucleotid-bindenden Proteinen ihren Namen „G-Protein“.). Außerdem besitzt sie eine intrinsische GTPase-Aktivität, durch die die α -Untereinheit GTP zu GDP und Phosphat hydrolysiert und damit ihre eigene Aktivität beendet. Die β -Untereinheit liegt in stabilem Komplex mit der γ -Untereinheit vor, welche wiederum den Komplex über einen Lipidanker in der Zellmembran verankert. Das Humangenom kodiert für mindestens 16 verschiedene α -, fünf β - und zwölf γ -Untereinheiten, die zu funktionell unterschiedlichen heterotrimeren G-Proteinen assembliert werden können. Nach der Familienzugehörigkeit der α -Untereinheit unterteilt man die heterotrimeren G-Proteine in vier Hauptklassen: G_s , G_i , G_q und G_{12} . (Rassow et al. 2012, S. 536 f.)

Die G-Proteine werden folgendermaßen aktiviert: Die Bindung eines extrazellulären Liganden führt, wie oben bereits erwähnt, zur Konformationsänderung des Rezeptors. Dieser aktiviert nun das intrazelluläre G-Protein mittels Austauschs von GDP durch GTP in der α -Untereinheit, infolgedessen die drei Untereinheiten in a) einen Komplex bestehend aus der β - und γ -Untereinheit und b) die α -Untereinheit dissoziieren. Die α -

Untereinheit kann dann membranständige Effektormoleküle aktivieren (s. **Abb. 2**). (Rassow et al. 2012, S. 536 f.)

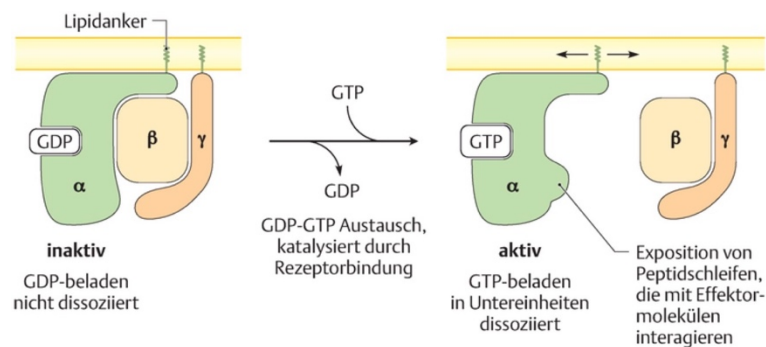


Abb. 2: Aktivierung eines G-Proteins (Rassow et al. 2012, S. 536)

Abkürzungen: $\alpha/\beta/\gamma = \alpha/\beta/\gamma$ -Untereinheit, GDP=Guanosindiphosphat, GTP=Guanosintriphosphat

1.2.1.4 Effektormoleküle

Die Effektormoleküle der heterotrimeren G-Proteine werden durch die α -Untereinheit aktiviert. Ihre Funktion besteht in der Synthese von Second Messengern, wie z.B. zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP), Inositol-1,4,5-triphosphat (IP_3) und Diacylglycerin (DAG), die extrazelluläre in intrazelluläre Signale umsetzen. Beispiele für Effektormoleküle sind die Adenylatzyklase (stimuliert durch G_s -Proteine und inhibiert durch G_i -Proteine) und die Phospholipase C (stimuliert durch das G_q -Protein). (Rassow et al. 2012, S. 537)

1.2.2 GNB3-Genstruktur und molekularer Aufbau der β -Untereinheit

Das Gen für die G-Protein β_3 -Untereinheit liegt auf Chromosom 12p13.31. Das gesamte GNB3-Gen erstreckt sich über 7,5 kb und setzt sich aus elf Exons und zehn Introns zusammen, wobei das Startcodon ATG auf Exon 3, das Stopcodon TGA auf Exon 11 zu finden ist (s. **Abb. 3**). Sein Promotor besitzt keine TATA-Box, dafür aber GC-reiche Regionen und ist induzierbar durch Phorbol ester. (Roskopf et al. 2000)

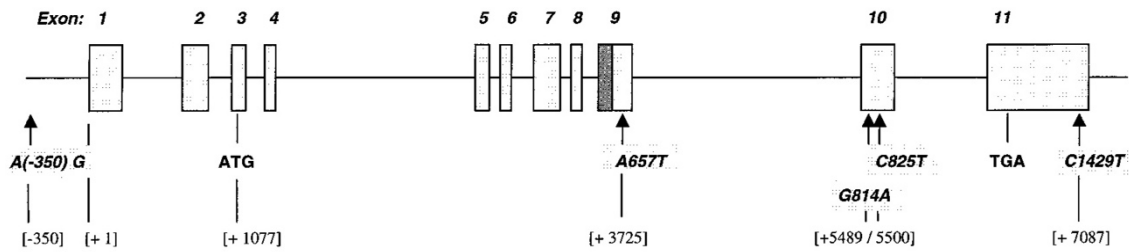


Abb. 3: GNB3-Genstruktur (Roskopf et al. 2000)

Abkürzungen: A=Adenin, C=Cytosin, G=Guanin, T=Thymin

G β -Proteine gehören zur Überfamilie der Propeller-Proteine. Alle bisher identifizierten G β -Proteine bestehen aus sieben WD-Repeats (in Anlehnung an die Aminosäuren Aspartat und Tryptophan), die eine ringförmige Struktur bilden (s. Abb. 4). Es existieren noch zahlreiche andere Proteine mit vier, fünf oder sechs WD-Domains. (Roskopf et al. 2000)

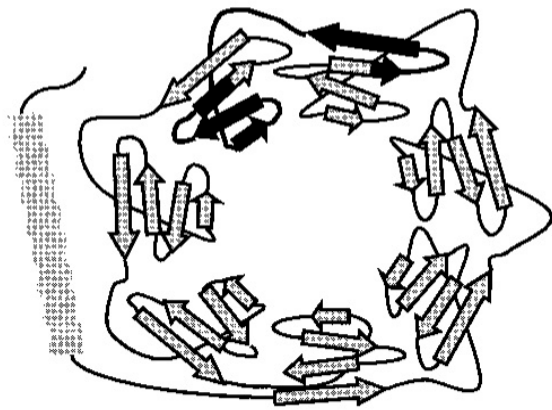


Abb. 4: Molekularer Aufbau der β -Untereinheit (Roskopf et al. 2000)

Erstmals beschrieben wurde GNB3 von Levine et al. (1990). Demnach erstreckt sich die β 3-Untereinheit über eine Länge von 340 Aminosäuren.

1.2.3 Der GNB3 C825T-Polymorphismus

Im Exon 10 von GNB3 findet sich eine häufige genetische Variante, ein sog. Polymorphismus, der durch den Austausch von Cytosin durch Thymin in Position 825 zustande kommt. Im Folgenden wird der Begriff „genetischer Polymorphismus“ definiert und der Einfluss des C825T-Polymorphismus auf die Proteinstruktur, seine globale Verteilung sowie seine klinischen Korrelate erläutert.

1.2.3.1 Definition: Genetischer Polymorphismus

Von einem genetischen Polymorphismus spricht man beim Auftreten von Genvarianten innerhalb einer Population. Die verschiedenen Varianten eines bestimmten Gens am gleichen Genort (Locus) werden auch als Allele bezeichnet. Definitionsgemäß muss die seltenere Genvariante eine Auftretenshäufigkeit von über 1 % haben. Die häufigsten Sequenzvariationen sind die Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) mit Austausch nur eines einzelnen Nukleotids im Desoxyribonukleinsäure-(DNA-)Molekül. Dabei resultieren nicht zwingend unterschiedliche Genprodukte. Sequenzvariationen innerhalb der codierenden DNA-Abschnitte haben aber meist einen Effekt auf das Genprodukt. (Buselmaier 2015, S. 276 ff.)

1.2.3.2 Struktureller Einfluss des GNB3 C825T-Polymorphismus

Der Austausch von Cytosin durch Thymin in Position 825 des Exons 10 hat keine Veränderung der Aminosäuresequenz zur Folge. Es kommt jedoch zum alternativen Spleißen des Gens (s. Abb. 5), wodurch eine neue Variante der β 3-Untereinheit entsteht. Diese wird $G\beta 3s$ genannt und ist trotz Deletion von 41 Aminosäuren in Exon 9 funktionell aktiv und sogar mit einer gesteigerten Signaltransduktion via Pertussis-Toxin-sensitiven G-Proteinen assoziiert. Die fehlenden Bereiche von $G\beta 3s$ sind in Abb. 4 schwarz markiert. (Rosskopf et al. 2000)

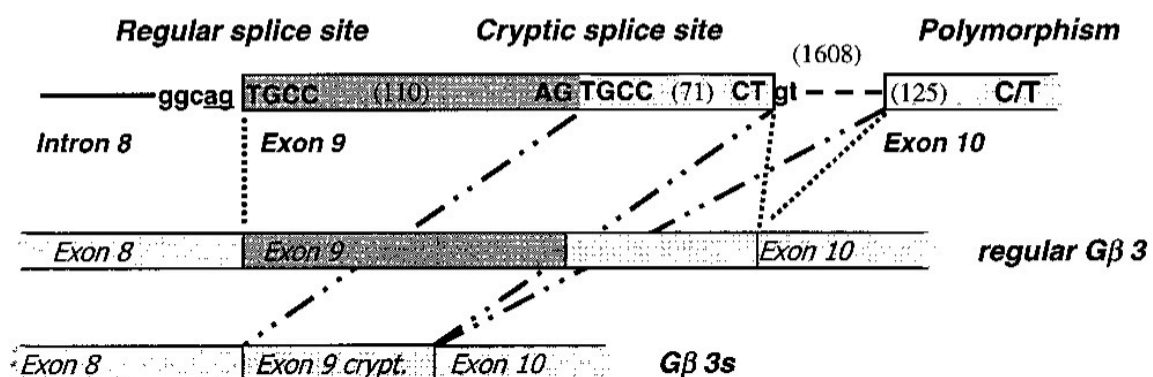


Abb. 5: Alternatives Spleißen von $G\beta 3s$ (Rosskopf et al. 2000)

Abkürzungen: A=Adenin, C=Cytosin, G=Guanin, T=Thymin

1.2.3.3 Globale Verteilung des 825T-Allels

Abb. 6 zeigt die weltweite Verteilung des 825T-Allels (Genotyp TT oder CT). Man findet das T-Allel gehäuft bei Schwarzafrikaner:innen (79 %) und den australischen Aborigines (72 %). Unter Kaukasier:innen beläuft sich der Anteil des 825T-Allels dagegen auf nur 33 % (Deutschland: 30 %). (Siffert et al. 1999)



Abb. 6: Globale Verteilung des 825T-Allels (Siffert et al. 1999)

1.2.3.4 Klinische Korrelate des GNB3 C825T-Polymorphismus

Im Folgenden sei auf die signifikantesten klinischen Korrelate des GNB3 C825T-Polymorphismus mit den jeweiligen Belegen hingewiesen:

- **Adipositas.** Siffert et al. (1999) beschrieben ein zwei- bis dreifach erhöhtes Auftreten von Adipositas bei jungen, männlichen, schwarzen Südafrikanern, bei Chines:innen und bei Deutschen mit dem 825T-Allel. Auch eine Metaanalyse von Li et al. (2016) ergab, dass homozygote T-Allel-Träger:innen eine gesteigerte genetische Anfälligkeit für Übergewicht und Adipositas aufweisen. Ozdemir et al. (2017) zeigten denselben Effekt bei Mäusen. Zudem beobachtete man bei Frauen, die homozygot für das T-Allel sind (TT), eine gesteigerte Gewichtszunahme während der Schwangerschaft (Dishy et al. 2003). Homozygote T-Allel-Träger:innen einer chinesischen Population waren außerdem anfälliger für eine Gewichtszunahme unter einer Langzeittherapie mit Clozapin bei Schizophrenie (Wang et al. 2005). Interessanterweise profitierten

homozygote C-Allel-Träger:innen bei einer strukturierten Gewichtsreduktion stärker von einer Therapie mit Sibutramin als T-Allel-Träger:innen (Hauner et al. 2003).

- **Essentielle Hypertonie.** Rong et al. (2017) kamen in einer Metaanalyse zu dem Schluss, dass der GNB3 C825T-Polymorphismus ausschließlich bei Kaukasier:innen mit einem erhöhten Auftreten von essentieller Hypertonie assoziiert ist. Sousa et al. (2018) belegten denselben Effekt in einer portugiesischen Population.
- **Gesteigerte Sildenafil-Response.** Bei homozygoten T-Allel-Trägern (Genotyp TT) ist das Ansprechen auf Viagra signifikant erhöht (Sperling et al. 2003).

1.2.4 Weitere Polymorphismen

Neben dem bedeutenden C825T-Polymorphismus besitzt das GNB3-Gen noch eine Reihe anderer bekannter Polymorphismen, die auch in Abb. 3 eingezeichnet sind (Roskopf et al. 2000):

- A(350)G
- A657T
- G814A
- C1429T

1.3 Braunes Fettgewebe

Um überflüssiges Gewicht loszuwerden, gibt es grundsätzlich zwei Möglichkeiten: Entweder a) weniger Kalorien zu sich nehmen etwa über eine passende Ernährung, Medikamente oder als Folge einer bariatrischen Chirurgie oder b) seinen Energieverbrauch erhöhen. Letzteres gelang bisher nur über körperliche Aktivität, was für viele übergewichtige und adipöse Patient:innen eine große Hürde darstellt. Nun ist ein Organ in den Fokus gerückt, das ebenfalls den Energieverbrauch erhöht und durch moderate Kälte aktiviert wird: braunes Fett.

1.3.1 Grundlegendes

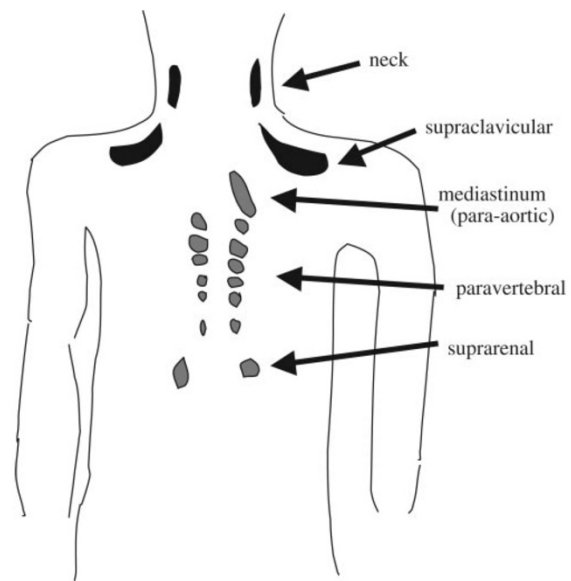
Die Funktion des braunen Fettgewebes besteht in der Produktion von Wärme (Thermogenese). Dies geschieht über die Entkopplung der Atmungskette in den Mitochondrien mittels Thermogenin (Synonym: Uncoupling Protein 1 (UCP1)). Die Bedeutung des braunen Fettgewebes liegt in der Wärmebildung des Neugeborenen und bei Tieren, die Winterschlaf halten. Dadurch ergab sich ein wichtiger evolutionärer Vorteil für uns als Säugetiere: Ein Überleben während Kälteperioden und während des Kältestresses der Geburt wurde gefördert. Dass braunes Fettgewebe in nahezu allen Höheren Säugetieren gefunden werden kann, ist erst seit dem 20. Jahrhundert klar. Dass Wärmeproduktion eine der Funktionen des braunen Fettgewebes ist, wird erst seit 50 Jahren formuliert, und die Beteiligung des Gewebes an diversen Arten metabolischer Ineffektivität (d.h. als mögliches Anti-Adipositas-Organ) wird erst seit ca. 30 Jahren diskutiert. (Cannon und Nedergaard 2004)

1.3.2 Aufbau

Makroskopisch entspricht der Aufbau des braunen Fettgewebes dem des weißen Fettgewebes. Lediglich die Farbe ist durch den hohen Mitochondriengehalt (und der dadurch erhöhten Cytochromkonzentration des Gewebes) braun. Mikroskopisch sind die Adipozyten des braunen Fettgewebes kleiner als die des weißen Fettgewebes. Es handelt sich um plurivakuoläre Fettzellen, d.h. Fettzellen, die im Gegensatz zu den univakuolären Adipozyten des weißen Fettgewebes mehr als eine Lipidvakuole pro Zelle enthalten. Braunes Fettgewebe ist reich an Mitochondrien und Kapillaren. (Lüllmann-Rauch 2012, S. 143)

1.3.3 Vorkommen

Braunes Fettgewebe kommt vor allem beim Neugeborenen vor, im Laufe des Lebens bildet es sich zunehmend zurück. Im Erwachsenenalter befindet sich der Hauptanteil in der Supraklavikular- und der Halsregion, zusätzlich gibt es paravertebrale, mediastinale, paraaortale und suprarenale Anteile (s. **Abb. 7**). Damit ist die



Lokalisation verschieden vom Nagetier. Dieses besitzt seinen Hauptanteil interskapulär, wo sich beim erwachsenen Menschen

Abb. 7: Vorkommen von braunem Fettgewebe beim Menschen (Nedergaard et al. 2007)

überhaupt kein braunes Fettgewebe findet. Zur Identifikation des aktiven braunen Fettgewebes beim erwachsenen Menschen hat maßgeblich die Positronen-Emissions-Tomographie in Kombination mit der Computertomographie (PET/CT) beigetragen. (Nedergaard et al. 2007)

1.3.4 Funktion

1.3.4.1 Überblick

Am besten erforscht ist das braune Fettgewebe der Nagetiere, darum bezieht sich die nachfolgende Erläuterung seiner Physiologie vor allem auf die Thermogenese bei Nagetieren. **Abb. 8** gibt einen Überblick über die Funktion. Der Mechanismus der Thermogenese ist, wie oben erwähnt, die Entkopplung der Atmungskette in den Mitochondrien mittels UCP₁. Im ventromedialen Hypothalamus werden Informationen über die Körpertemperatur, Ernährungszustand und Energiereserven koordiniert. Bei einem Kältereiz

kommt es zu gesteigerter Sympathikusaktivität und folglich zur Freisetzung von Noradrenalin. Über die Stimulation von β_3 -Adrenozeptoren der Adipozyten wird die Fettverbrennung angeregt, sodass Triglyceride zu freien Fettsäuren abgebaut werden. Die Fettsäuren werden in der Atmungskette verbrannt. Gleichzeitig wird der Protonenkanal UCP1 in die innere Mitochondrienmembran eingebaut. Die Protonen, die im Rahmen der Atmungskette in den Intermembranraum gepumpt werden, fließen durch das UCP1 zurück in die Mitochondrienmatrix, anstatt durch die Adenosin-triphosphat-(ATP-)Synthase. Die Energie der Atmungskette wird dann nicht in Form von ATP, sondern in Form von Wärme freigesetzt. Das Ergebnis ist, dass ein erhöhter Anteil der Nahrung und des Sauerstoffs aus dem Blut vom braunen Fettgewebe aufgenommen und verbrannt wird, was zu einer Steigerung der Wärmeproduktion führt. (Cannon und Nedergaard 2004)

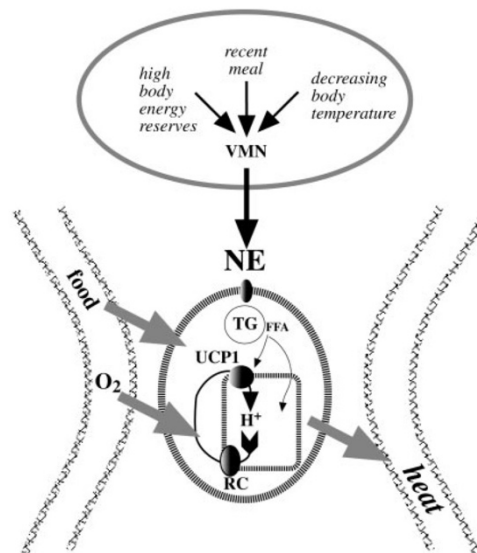


Abb. 8: Überblick über die Funktion von braunem Fettgewebe (Cannon und Nedergaard 2004)

Abkürzungen: FFA=freie Fettsäuren, H⁺=Proton, NE=Noradrenalin, O₂=Sauerstoff, RC=Atmungskette, TG=Triglyceride, UCP1=Uncoupling Protein 1, VMN=ventromedialer Hypothalamus

1.3.4.2 Regulierung durch Noradrenalin

Noradrenalin stimuliert über die Bindung an β_3 -Adrenozeptoren die Thermogenese. Nach der Rezeptorbindung aktiviert das G_s-Protein die Adenylatzyklase, wodurch die intrazelluläre cAMP-Konzentration steigt und die Proteinkinase A aktiviert wird. Die Proteinkinase A phosphoryliert zum einen den Transkriptionsfaktor CREB, der u.a. die UCP1-Expression fördert. Über

die Aktivierung von Src und die folgende Aktivierung des Erk1/2-Pathways kommt es zum anderen zur Hemmung der Apoptose. Außerdem wird über die Stimulierung der Lipolyse direkt die Thermogenese angekurbelt. Demgegenüber führt die Bindung von Noradrenalin an α_2 -Adrenozeptoren über das G_i -Protein und eine Hemmung der Adenylatzyklase zur Inhibition der Thermogenese (s. Abb. 9). (Cannon und Nedergaard 2004)

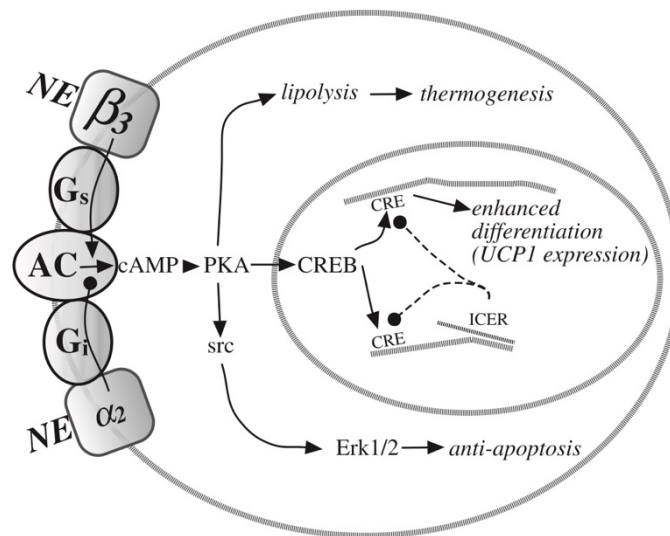


Abb. 9: Signalübertragung über β_3 - und α_2 -Adrenozeptoren im braunen Adipozyten (Cannon und Nedergaard 2004)

Abkürzungen: $\alpha_2/\beta_3 = \alpha_2/\beta_3$ -Adrenozeptor, AC=Adenylatzyklase, cAMP=zyklisches Adenosinmonophosphat, $G_i/G_s = G_i/G_s$ -Protein, NE=Noradrenalin, PKA=Proteinkinase A

1.3.4.3 Aktivierung von UCP1 durch Lipolyse

Thermogenese entsteht durch die Aktivierung von UCP1 durch Lipolyse. Noradrenalinvermittelt kommt es zur Phosphorylierung der hormonsensitiven Lipase, die die Lipolyse von Triglyceriden zu freien Fettsäuren und Glycerin innerhalb der Zelle katalysiert. Die Fettsäuren werden über das Carnitin-Acyltransferase-System in das Mitochondrium transportiert und dort β -oxidiert. Das freigesetzte Acetyl-Coenzym A wird daraufhin im Zitratzyklus oxidiert. Die Protonen, die im Rahmen der Atmungskette in den

Intermembranraum gepumpt werden, fließen durch das UCP₁ zurück in die Mitochondrienmatrix, wodurch die Wärme entsteht. Aktiviert wird das UCP₁ durch freie Fettsäuren (s. **Abb. 10**). (Cannon und Nedergaard 2004)

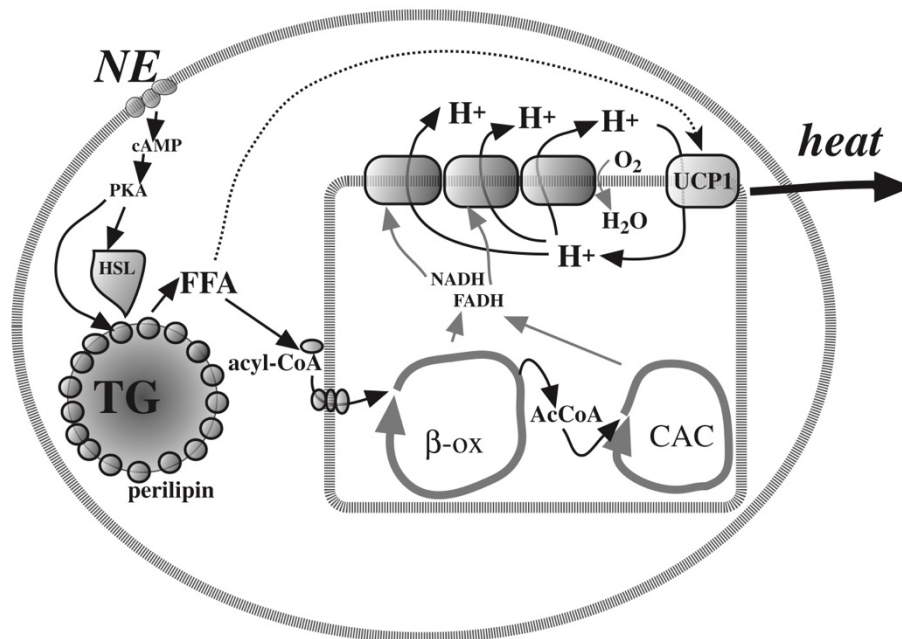


Abb. 10: Aktivierung von UCP₁ durch Lipolyse (Cannon und Nedergaard 2004)

Abkürzungen: AcCoA=Acetyl-Coenzym A, β -ox= β -Oxidation, CAC=Zitratzyklus, cAMP=zyklisches Adenosinmonophosphat, FADH=Flavin-Adenin-Dinukleotid, FFA=freie Fettsäuren, H^+ =Proton, H_2O =Wasser, HSL=hormonsensitive Lipase, NADH=Nicotinamidadenindinukleotid, NE=Noradrenalin, O_2 =Sauerstoff, PKA=Proteinkinase A, TG=Triglyceride, UCP₁=Uncoupling Protein 1

In den Mitochondrien unterschiedlicher Gewebe wurden zudem vier weitere entkoppelnde Proteine identifiziert, UCP₂ – UCP₅, die aber zur Thermogenese keinen signifikanten Beitrag leisten. Ihre physiologische Funktion ist noch nicht endgültig geklärt. (Slocinska et al. 2016)

1.3.4.4 Das Leben des braunen Adipozyten

Die Thermogenese des braunen Fettgewebes ist abhängig von zwei Faktoren: seinem Aktivitätszustand und seinem Rekrutierungszustand (s. Abb. 11). Der Aktivitätszustand wird dabei bestimmt von der akuten Rate an sympathischer Stimulation, der Rekrutierungszustand von dem chronischen Level an sympathischer Stimulation. Noradrenalin reguliert außerdem direkt die Expression des UCP1-Gens und ist ein Apoptose-Inhibitor in braunen Fettzellen. (Cannon und Nedergaard 2004)

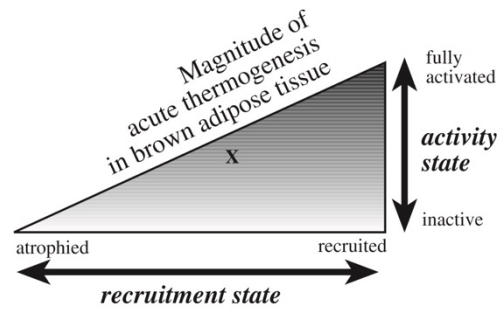


Abb. 11: Abhängigkeit der Thermogenese vom Aktivitäts- und Rekrutierungszustand des braunen Fettgewebes (Cannon und Nedergaard 2004)

TNF- α dagegen wirkt apoptotisch. Adipositas könnte deshalb durch erhöhte TNF- α -Spiegel zur gesteigerten Atrophie des braunen Fettgewebes führen. (Markelic et al. 2011)

1.3.4.5 Thermoregulatorische Thermogenese

Bei akuter Kälte resultiert die Wärmeproduktion aus Zittern, die Beteiligung von braunem Fett an der Thermogenese ist nur optional. Chronische Kälteexposition dagegen hat ein fast vollständiges Verschwinden des Zitterns zur Folge, trotzdem bleibt der Ruheenergieverbrauch („Grundumsatz“) und damit die Wärmeproduktion erhöht. Diese zitterfreie, kälteinduzierte Thermogenese ist gänzlich abhängig von braunem Fettgewebe. Zentral reguliert wird die thermoregulatorische Thermogenese im ventromedialen Hypothalamus. Das braune Fettgewebe wird vom sympathischen Nervensystem innerviert, der Transmitter ist Noradrenalin. (Cannon und Nedergaard 2004)

1.3.4.6 Metaboloregulatorische Thermogenese

Eine Einzelmahlzeit führt zur Aktivierung von braunem Fettgewebe, Fasten und Hungern führen zur Inaktivierung. Überernährung fördert Adipositas, was zu einer gesteigerten Leptin-Ausschüttung und so zur Aktivierung von braunem Fettgewebe führt. Der Effekt dieser sog. „Adipositas-induzierten Thermogenese“ ist, dass, durch Verringerung der metabolischen Effektivität, der Adipositas wiederum entgegenwirkt wird. Auch die metaboloregulatorische Thermogenese wird zentral im ventromedialen Hypothalamus reguliert. (Cannon und Nedergaard 2004)

1.3.4.7 Stoffaufnahme und Clearance

Noradrenalin kann cAMP-vermittelt die Expression und dadurch auch die Aktivität der Lipoproteinlipase erhöhen. So wird die Aufnahme freier Fettsäuren in den braunen Adipozyten erhöht, welche entweder in den Mitochondrien verbrannt oder in den Lipidvakuolen gespeichert werden. Wahrscheinlich wird über eine noradrenalinvermittelte Erhöhung der Expression und Aktivität der GLUT₁-Transporter auch die Glucoseaufnahme in die Zelle gefördert (s. Abb. 12). (Cannon und Nedergaard 2004)

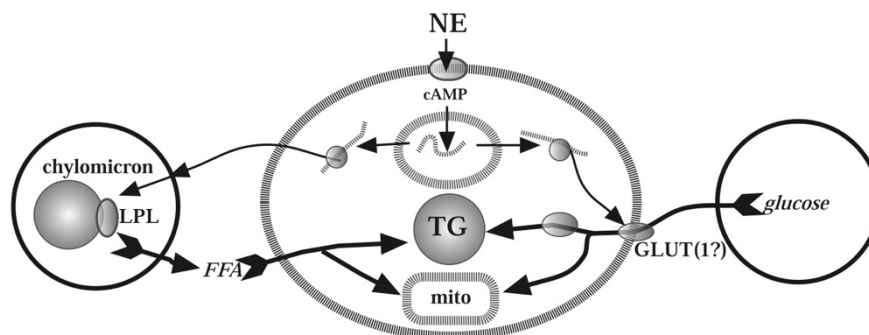


Abb. 12: Aufnahme von Fettsäuren und Glucose in den braunen Adipozyten (Cannon und Nedergaard 2004)

Abkürzungen: cAMP=zyklisches Adenosinmonophosphat, GLUT₁=GLUT₁-Transporter, LPL=Lipoproteinlipase, mito=Mitochondrium, NE=Noradrenalin, TG=Triglyceride

Während der zitterfreien Wärmebildung ist das braune Fettgewebe außerdem das größte sauerstoffverbrauchende Organ im Körper: Mehr als die Hälfte des gesamten aufgenommenen Sauerstoffs (ebenso mehr als die Hälfte der aufgenommenen Nahrungsenergie) wird bei Kälteexposition dem braunen Fettgewebe zugeführt und dort reduziert. (Cannon und Nedergaard 2004)

1.3.5 Beige Fettzellen

Wu et al. (2012) beschrieben eine neben weißem und braunem Fettgewebe dritte, bis dato unbekannte Art von Fettgewebe, das „beige Fettgewebe“. Es besitzt Eigenschaften sowohl von weißem als auch von braunem Fettgewebe: Wie weißes Fettgewebe weist es eine sehr niedrige basale Expression an UCP1 auf, jedoch kann es wie braunes Fettgewebe auf cAMP-Stimulation mit einer hohen UCP1-Expression und Atmungsrate reagieren. Beige Fettzellen liegen diffus verteilt im weißen Fettgewebe, streng genommen handelt es sich also um gar kein „Gewebe“ im engeren Sinne (Sidossis und Kajimura 2015). Sie können durch externe Reize, z.B. Kälteexposition, aus weißen Adipozyten entstehen – ein Prozess, der „Browning“ genannt wird – oder aber direkt aus Vorläuferzellen (Warner und Mittag 2016).

1.4 Anpassung an Kältebelastung

Um die physiologische Körperkerntemperatur von im Mittel 37 °C konstant halten zu können, muss der Körper über Regelmechanismen verfügen. Das Regelzentrum der Thermoregulation liegt im Hypothalamus. Hier werden Signale von zentralen und peripheren Kalt- und Warmrezeptoren integriert, ein Istwert der Körpertemperatur generiert und mit einem internen Sollwert abgeglichen. Ist der Istwert zu niedrig, werden Mechanismen zur Wärmebildung veranlasst: Die Hautdurchblutung wird gedrosselt, außerdem kommt es zum Kältezittern und zur zitterfreien Wärmebildung. Bei zu hohem Istwert wird vermehrt Wärme abgegeben, die Hautdurchblutung nimmt zu und man schwitzt (s. **Abb. 13**). (Behrends et al. 2012, S. 524)

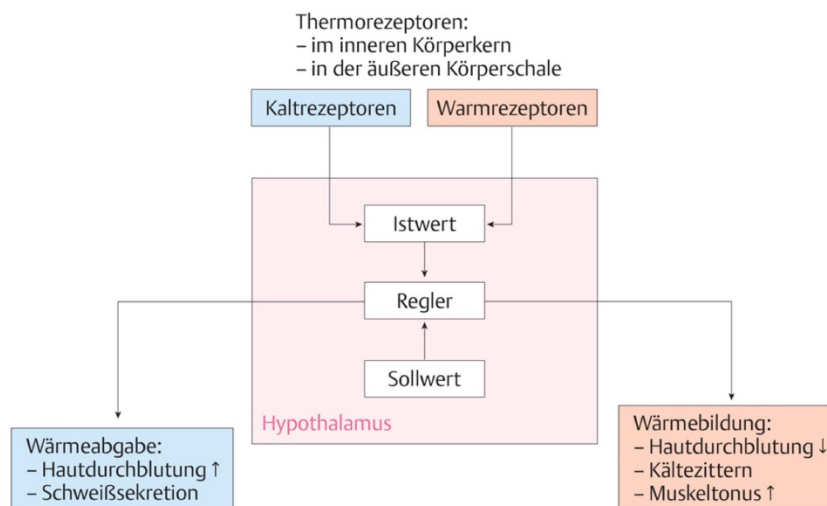


Abb. 13: Regelmechanismus zur Einstellung der Körperkerntemperatur
(Behrends et al. 2012, S. 524)

Am wichtigsten für die Kälteakklimatisation ist die Verhaltensanpassung, z.B. durch die Auswahl geeigneter Kleidung. Bei kurzfristiger Kältebelastung werden die o.g. Mechanismen der Temperaturregulation aktiviert (Vasokonstriktion, Zittern und zitterfreie Wärmebildung). Bei langfristiger Kältebelastung dagegen sinkt die Zitterschwelle ab, der Grundumsatz und damit die zitterfreie Wärmebildung im braunen Fettgewebe ist aber erhöht. Gefühle von Unbehagen und Schmerz lassen nach. (Daanen und Van Marken Lichtenbelt 2016)

2. Problemstellung

Die zentrale Frage, der sich diese Dissertation widmet, ist, ob und wie der GNB3 C825T-Polymorphismus die kälteinduzierte Thermogenese beim Menschen beeinflusst. Folgende Problemstellungen standen im Mittelpunkt:

- Kann der Grundumsatz nach Kälteexposition in Abhängigkeit vom Genotyp verschieden stark gesteigert werden?
- Verändern sich metabolische und hormonelle Parameter unterschiedlich je nach Genotyp?
- Kann durch Genotypisierung womöglich gar eine Vorhersage getroffen werden, wie gut Patient:innen mit unterschiedlichen Genotypen von Interventionen gegen Adipositas profitieren, die das braune Fettgewebe aktivieren?

3. Material & Methodik

Die FREECE-Studie („Effect of the FTO-Genotype on Resting Energy Expenditure after defined Cold Exposure“) bestand aus drei Teilen: der klinischen Studie, Laboranalysen und der statistischen Auswertung. In diesem Abschnitt werden die Details zu diesen drei Teilen beschrieben. Verwendetes Material, Software und Standard Operating Procedures (SOPs) finden sich im Anhang.

3.1 Klinische Studie

3.1.1 Teilnehmende und Grundlagen

An der Studie nahmen bis zum Zeitpunkt der Datenauswertung 162 Proband:innen teil. Die Messungen fanden in zwei Perioden statt. Dabei dauerte die erste Messperiode von Oktober 2016 bis Mai 2017 und die zweite von Oktober 2017 bis Mai 2018. Die Studie wurde am ZIEL - Institute for Food & Health in Freising und am Lehrstuhl für Ernährungsmedizin in München durchgeführt. Damit die Studie unter standardisierten Bedingungen stattfinden konnte, wurden SOPs eingeführt und identische Geräte an beiden Orten verwendet. Sechs Proband:innen wurden aus diversen Gründen (z.B. Zittern oder Hypothyreose) von der Datenanalyse ausgeschlossen. Von den 156 in die Datenanalyse eingeschlossenen Proband:innen stammten 61 aus der ersten und 95 aus der zweiten Messperiode. Von 145 Proband:innen lag ein vollständiger Datensatz vor (s. **Abb. 14**). Außerdem fand eine dritte Messperiode zwischen Oktober 2018 und Mai 2019 statt, eine vierte begann im Oktober 2019. Die Daten dieser Messperioden wurden aber in dieser Dissertation nicht berücksichtigt.

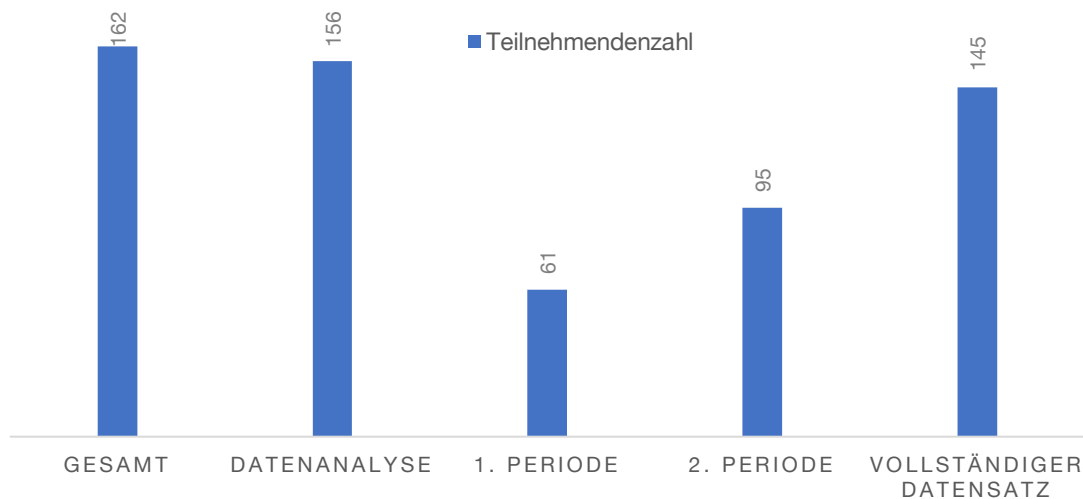


Abb. 14: Teilnehmende an der FREECE-Studie

Die Studie wurde von Prof. Dr. Hans Hauner betreut. Ziel der Studie war es zu untersuchen, wie gut sich der Energieverbrauch bei leichter Kälte erhöhen lässt und inwieweit dies durch Gene gesteuert wird.

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der TUM Fakultät für Medizin genehmigt. Die Studie ist im Deutschen Register Klinischer Studien (DRKS) registriert (DRKS-ID: DRKS00010489). Die Proband:innen gaben ihre schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie und zur pseudonymisierten Verwendung ihrer Daten (vgl. Anh. 3). Sie wurden über mögliche Risiken der Teilnahme aufgeklärt. Ferner erhielten die Proband:innen eine Aufwandsentschädigung in Höhe von 50 € bzw. 100 € bei zusätzlicher Fettbiopsie.

Die Rekrutierung erfolgte über Aushänge im ZIEL-Gebäude der TUM, in der Mensa der TUM in Weihenstephan, in den Fachschaften der TUM, in der Boulderwelt München Ost und in der Studentenwerk Mensa Leopoldstraße (vgl. Anh. 4). Außerdem wurden Teilnehmende über den E-Mail-Verteiler der TUM, über mediTUM, über Radio Arabella und über „Mundpropaganda“ angeworben.

Einschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren:

- Alter 18 – 40 Jahre
- BMI zwischen 18,5 und 40 kg/m²

Ausschlusskriterien waren:

- Teilnahme an anderen Interventionsstudien
- Schwangerschaft
- Rauchen
- Übermäßige sportliche Aktivität (mehr als zehn Stunden Ausdauersport pro Woche)
- Chronische Erkrankungen (z.B. Diabetes mellitus, unbehandelte Schilddrüsenüberfunktion oder -unterfunktion, unbehandelter Bluthochdruck)
- Bluttransfusion in den letzten drei Monaten
- Antibiotikabehandlung in den letzten sechs Wochen
- Immobilität (z.B. an den Rollstuhl gebunden)
- Kein stabiles Körpergewicht in den letzten drei Monaten (+/- 3 kg)

Die Ein- und Ausschlusskriterien wurden über Screeningbögen (vgl. Anh. 5) erfasst. Zugelassene Teilnehmende wurden zu einem der beiden Studienzentren um 7:30 Uhr morgens eingeladen.

3.1.2 Untersuchungsablauf

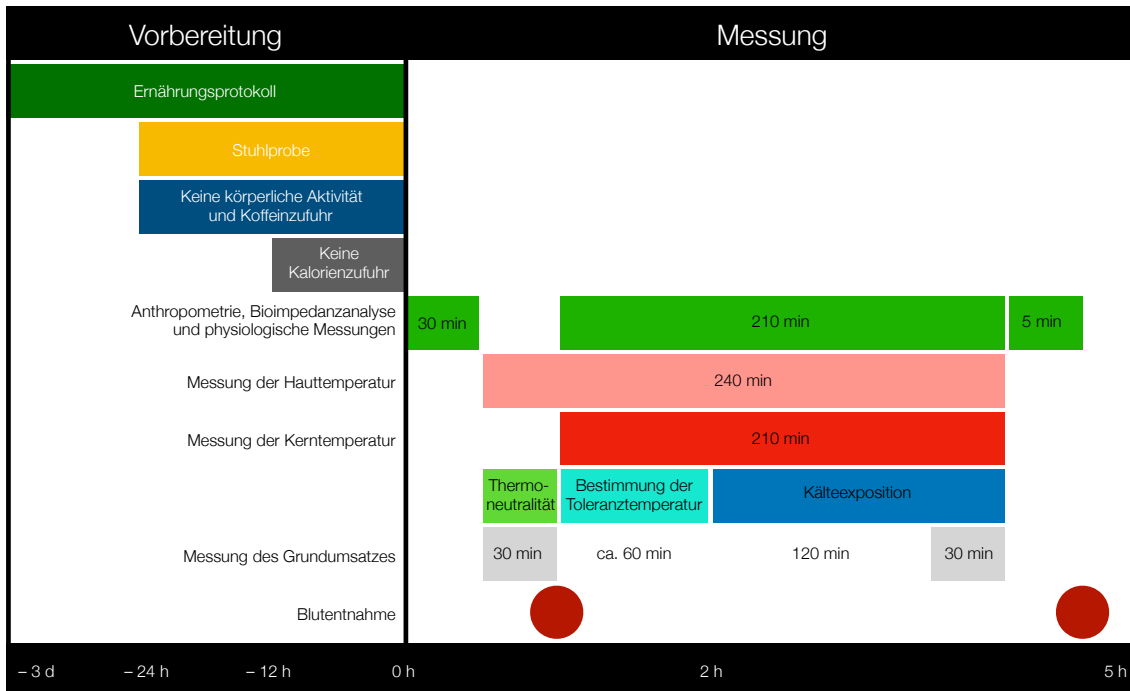


Abb. 15: Übersicht über den Ablauf der FREECE-Studie

Abb. 15 gibt einen Überblick über das Studienprozedere. Drei Tage vor der Messung mussten die Proband:innen ein Ernährungsprotokoll führen. Eine Stuhlprobe vom Tag vor oder vom Tag der Messung sollte mitgebracht werden. Außerdem war 24 Stunden vor der Messung keine körperliche Aktivität oder Koffeinzufuhr erlaubt. Zwölf Stunden vorher durften keine Kalorien zu sich genommen werden. Die Messung begann mit der Bestimmung der Körpergröße und des Taillen-Hüftumfangs. Daran schloss sich die Bioimpedanzanalyse an, gefolgt von der Messung des Blutdrucks (RR) und der Herzfrequenz (HF). Vor der ersten Grundumsatz-(GU-)Messung bei Thermoneutralität (TN; 32 °C) wurden neun Oberflächentempersensoren auf der Haut der Teilnehmenden befestigt. Nach der ersten GU-Messung wurde den Proband:innen Blut abgenommen. Daran anschließend wurden die Proband:innen schrittweise zwischen zwei wasserdurchfluteten Decken abgekühlt, bis es zum Muskelzittern kam oder ihnen Schauer über den Rücken liefen. Die Temperatur wurde wieder um 2 °C erhöht und bei dieser sog. Toleranztemperatur mussten die Teilnehmenden zwei Stunden lang liegen. Danach fand die zweite GU-Messung mittels indirekter Kalorimetrie statt.

Während der Kälteakklimatisierung und der Kälteexposition (KE) wurden außerdem Puls und Körperkerntemperatur der Proband:innen bestimmt. Nach wiederholter Messung von RR und HF wurde den Proband:innen ein zweites Mal Blut entnommen.

Die erhobenen Daten wurden sorgfältig in das Case Report Form (vgl. Anh. 6) und die „Datenmanagement“ Excel-Tabelle übertragen. Im Folgenden werden die einzelnen Bestandteile der klinischen Studie näher erläutert.

3.1.2.1 *Ernährungsprotokoll*

Die Proband:innen wurden dazu aufgefordert, während der drei Tage vor der Messung ein Ernährungsprotokoll zu führen, in das alle konsumierten Lebensmittel und Getränke eingetragen wurden. Neben dem eigentlichen Ernährungsprotokoll (vgl. Anh. 7) erhielten die Teilnehmenden auch eine Anleitung (vgl. Anh. 8) als Hilfe zum Ausfüllen relevanter Details wie der Mengenangaben oder der Zubereitungsart. Diese Daten wurden später in OptiDiet PLUS Version 5.1.2.046 übertragen. Zur Standardisierung der Ernährungsprotokolle wurde eine Excel-Tabelle herangezogen, welche Grundregeln, alternative Bezeichnungen für Nahrungsmittel in OptiDiet und übliche Portionsgrößen berücksichtigte.

3.1.2.2 *Stuhlprobe*

Außerdem sollten die Teilnehmenden eine Stuhlprobe abgeben, die am Tag vor oder am Tag der Messung gesammelt und bis zum Transport zur Studieneinheit im Kühlschrank aufbewahrt worden war (vgl. Anh. 9 und 10). Dabei enthielt das erste Entnahmeröhrchen eine DNA-Stabilisierungslösung, das zweite keine (s. **Abb. 16**). In der Studieneinheit wurden die Proberöhrchen schließlich bei 80 °C eingefroren. Ausgewertet wurden die Stuhlproben im Rahmen dieser Dissertation jedoch nicht.



Abb. 16: Stuhlsammelgefäß

3.1.2.3 Körperliche Aktivität, Koffein- und Kalorienzufuhr

Die Proband:innen wurden gebeten, 24 Stunden vor der Untersuchung keinen Sport zu treiben sowie keine koffeinhaltigen Getränke wie Kaffee oder Schwarztee zu konsumieren. Zwölf Stunden vor der Messung war nur Wasser, jedoch kein Essen oder kalorische Getränke erlaubt.

3.1.2.4 Anamnesebogen

Den Teilnehmenden wurden mehrere Fragen bezüglich ihrer Gesundheit und ihres Lebensstils gestellt (vgl. Anh. 6):

- Vorliegen bestimmter Erkrankungen (u.a. Krebs, Diabetes)
- Operation in den vergangenen drei Monaten
- Antibiotikaeinnahme in den vergangenen sechs Wochen
- Regelmäßige Medikamenteneinnahme
- Menstruation: Einnahme hormoneller Verhütungsmittel, Regelmäßigkeit des Zyklus, Zyklushälfte
- Gewichtänderung in den vergangenen drei Monaten
- Schlafdauer der letzten Nacht
- Spezielle Kostform
- Sport im Winter und Sport im Sommer
- Arbeit bzw. Hauptbeschäftigung
- Schulabschluss
- Beruf
- Belastungen am Arbeitsplatz (z.B. Schichtarbeit, Stress)
- Arbeit an der frischen Luft

3.1.2.5 Anthropometrie, Bioimpedanzanalyse und physiologische Messungen

Mit dem Stadiometer seca 217 wurde die Körpergröße auf 0,1 cm genau ermittelt. Dazu mussten sich die Proband:innen in aufrechter Haltung und mit

Blick nach geradeaus vorn mit dem Rücken gegen die Messleiste des Stadiometers stellen (vgl. Anh. 11).

Zur Bestimmung des Taillen-Hüftumfangs wurde ein seca Umfangsmaßband verwendet, wobei der Taillenumfang in cm durch den Hüftumfang in cm geteilt wurde. Die Proband:innen mussten sich dazu bis auf die Unterwäsche entkleiden. Eine abdominale Adipositas lag bei einem Taillenumfang > 88 cm bei Frauen bzw. > 102 cm bei Männern vor (vgl. Anh. 12).

Die Bioelektrische Impedanzanalyse ist eine Methode zur Messung der Körperzusammensetzung. Dabei wurden Körpergewicht, Fettanteil, Fettmasse, fettfreie Masse, Körperwasser, Grundumsatz und Impedanz des ganzen Körpers unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und Körpergröße bestimmt. Die Proband:innen mussten vor der Messung ihre Blase entleeren, sich bis auf die Unterwäsche frei machen, barfuß auf die Fußelektroden steigen und die Handelektroden so greifen, dass



Abb. 17: TANITA BC-418 MA Segment-Körperanalysewaage

(<https://www.tanita.com/en/bc-418/>
[01.11.2019])

kein Kontakt zwischen Armen und Körper bestand. In München war die BC-418 MA Segment-Körperanalysewaage von TANITA (vgl. **Abb. 17** und Anh. 13); in Freising waren zusätzlich der seca mBCA 515 Medizinischer Body Composition Analyser (vgl. Anh. 14) und die zugehörige Software seca analytics 115 zur Verfügung. Diese ermittelte neben den oben genannten Werten außerdem das viszerale Fett nach Eingabe des Taillenumfangs.

Mit dem M8 Comfort/M300 Blutdruckmessgerät von OMRON wurden der systolische und diastolische RR bestimmt. Dazu mussten die Teilnehmenden

vor der Messung mindestens fünf Minuten ruhig sitzen. Die Erstmessung wurde an beiden Armen durchgeführt. Am Arm mit dem höheren Wert wurde noch zweimal gemessen, wobei der Mittelwert aus den drei Messungen am Arm mit dem höheren Wert berechnet wurde. Der RR-Messpunkt musste dabei immer in Herzhöhe liegen und die Proband:innen durften nicht sprechen (vgl. Anh. 15). Die Blutdruckmessung wurde vor der ersten GU-Messung durchgeführt und nach der zweiten wiederholt.

Das Blutdruckmessgerät ermittelte außerdem die HF. Aus den letzten beiden Messungen am Arm mit dem höheren RR-Wert wurde die mittlere HF bestimmt. Auch die HF-Messung wurde vor der ersten GU-Messung durchgeführt und nach der zweiten wiederholt.

Zudem wurde während der Kälteakklimatisierung und der KE der Puls mit dem Pulsoximeter PULOX PO-300 gemessen und aufgezeichnet. Die Daten wurden im Anschluss an die Messung mit dem Programm SpO₂ Review Version 1.5 ausgewertet (vgl. Anh. 16).

3.1.2.6 Temperaturmessungen

Zur Überwachung der Körperoberflächentemperatur während der gesamten Messzeit ab der ersten Kalorimetrie wurden neun ThermoChron iButtons mit Leukosilk auf der Haut der Proband:innen befestigt. Messzeitpunkte waren jede Minute. Acht iButtons wurden an verschiedenen Stellen des Körpers nach ISO 9886 (2004) zur Messung der allgemeinen Körperoberflächentemperatur in °C platziert. Zusätzlich wurde ein neunter iButton oberhalb des linken Schlüsselbeins zur Messung der Wärmeabgabe von supraklavikulärem braunem Fettgewebe angeklebt (s. **Abb. 18**).

Die Programmierung, Synchronisation und Auswertung der iButtons erfolgte mit dem zugehörigen Programm OneWire-Viewer Version 0.3.19.47 und Microsoft Excel 2016 bzw. Apple Numbers Version 5.1 (vgl. Anh. 17). Es wurde die mittlere Hauttemperatur bei TN und KE berechnet. Die allgemeine

Oberflächentemperatur wurde mit folgender Formel gemäß ISO 9886 (2004) bestimmt:

$$T_{Haut} = T_{Stirn} * 0,07 + T_{Schulter} * 0,175 + T_{Brust} * 0,175 + T_{Oberarm} * 0,07 + T_{Unterarm} * 0,07 + T_{Hand} * 0,05 + T_{Oberschenkel} * 0,19 + T_{Unterschenkel} * 0,2$$

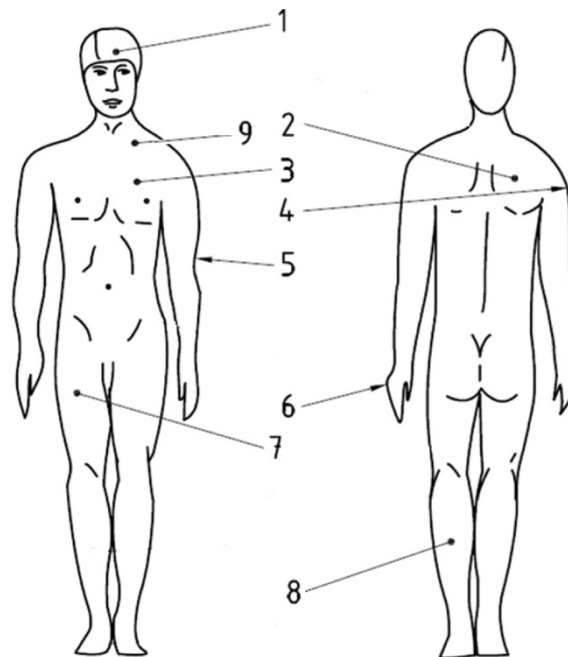


Abb. 18: Nach ISO 9886 (2004) festgelegte Körpermesspunkte (1 – 8): 1) Stirn 2) rechtes Schulterblatt 3) linke obere Brust 4) rechter Oberarm obere Hälfte 5) linker Oberarm untere Hälfte 6) linker Handrücken 7) rechter Oberschenkel vorne 8) linker Unterschenkel hinten; zusätzlich: 9) oberhalb des linken Schlüsselbeins, zur Messung der Wärmeabgabe von supraklavikulärem braunen Fettgewebe

Mithilfe des 3M Bair Hugger Temperatur Monitor 37010 Systems wurde während der Kälteakklimatisation und der KE außerdem die Körperkerntemperatur nicht-invasiv gemessen. Nach Desinfektion wurde dazu ein Temperatursensor auf der Stirn befestigt, wobei eine Zone der Isolation den Wärmeverlust an die Umgebung verhinderte. Über den daraus resultierenden Aufbau eines isothermen Tunnels konnte die Kerntemperatur der Proband:innen an die Oberfläche aufsteigen und dort gemessen, gespeichert und kontinuierlich angezeigt werden (s. **Abb. 19**).

Die Temperatur wurde alle zehn Minuten im Kühlprotokoll notiert (vgl. Anh. 18 und 19). Im Anschluss an die Messung wurden bei allen Teilnehmenden die minimale und maximale sowie die mittlere Körperkerntemperatur bestimmt.

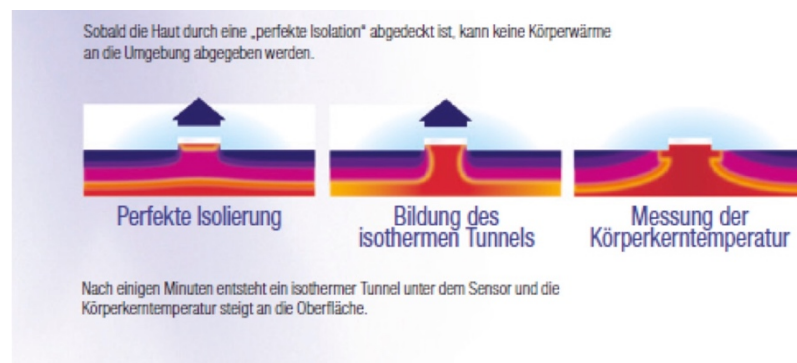


Abb. 19: Prinzip des isothermen Tunnels

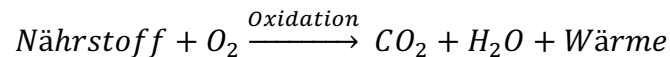
3.1.2.7 Individualisiertes Kühlprotokoll

Zunächst erfolgte die erste GU-Messung bei TN. Dazu wurden zwei wasserdurchflutete Decken, zwischen denen die Proband:innen lagen, mithilfe des Kältethermostats WiseCircu WCR-P8 auf 32 °C temperiert. Um die maximale kälteinduzierte Thermogenese im braunen Fettgewebe zu erzielen, wurden die Decken anschließend schrittweise abgekühlt, bis bei den Teilnehmenden das erste Muskelzittern auftrat oder ihnen Schauer über den Rücken liefen. Dann wurde die Temperatur wieder um 2 °C erhöht, um ein Kältezittern sicher zu verhindern. Bei dieser sog. Toleranztemperatur begann die zweistündige KE. Im Anschluss wurde bei der Toleranztemperatur ein zweites Mal der GU mittels indirekter Kalorimetrie bestimmt. Wenn nötig, durften die Proband:innen während der KE auf die Toilette gehen (vgl. Anh. 20).

3.1.2.8 Indirekte Kalorimetrie

Der Ruheenergieverbrauch („Grundumsatz“) wurde über indirekte Kalorimetrie mittels COSMED Quark RMR bestimmt. Das Grundprinzip dieser Messmethode ist, dass sämtlicher eingeatmeter Sauerstoff (O_2) zur Oxidation von Nährstoffen aufgewendet wird und das gesamte Kohlenstoffdioxid (CO_2), das bei der Umwandlung der Nährstoffe zu CO_2 und Wasser entsteht,

abgeatmet wird. Da sich die Teilnehmenden in Ruhelage befanden, konnten ferner die Begriffe Wärme und Energie synonym verwendet werden:



Über die Messung von Sauerstoffverbrauch (V_{O_2} in ml/min) und Kohlendioxidproduktion (V_{CO_2} in ml/min) konnte anhand der verkürzten Gleichung von Weir der Ruheenergieverbrauch (RMR) in kcal/d berechnet werden (Weir 1949):

$$\text{RMR (kcal/d)} = (3,9 * V_{\text{O}_2} + 1,1 * V_{\text{CO}_2}) * 1,44$$

Außerdem konnten V_{O_2} und V_{CO_2} zur Bestimmung des respiratorischen Quotienten (RQ) herangezogen werden:

$$\text{RQ} = \frac{V_{\text{CO}_2}}{V_{\text{O}_2}}$$

Der RQ gibt Auskunft darüber, welche Makronährstoffe zur Energiegewinnung oxidiert werden. Glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) als Beispiel für ein Kohlenhydrat hat einen RQ von 1,0, weil zur vollständigen Oxidation genauso viele O_2 -Moleküle benötigt werden, wie CO_2 -Moleküle entstehen, nämlich jeweils sechs (d.h. $6 \text{ CO}_2/6 \text{ O}_2$). Tripalmitoylglycerin ($\text{C}_{51}\text{H}_{96}\text{O}_6$) als Lipid dagegen hat einen RQ von 0,7, weil zur vollständigen Oxidation 72,5 O_2 -Moleküle verbraucht, jedoch nur 51 CO_2 -Moleküle produziert werden (d.h. $51 \text{ CO}_2/72,5 \text{ O}_2$). Proteine haben einen RQ von 0,8. Bei normaler Mischkost beträgt der RQ etwa 0,82. Bei höherem RQ sind die vorherrschenden Nährstoffe eher Kohlenhydrate, bei kleinerem RQ eher Fette und Proteine. (Behrends et al. 2012, S. 515)

Der GU wurde unter standardisierten Bedingungen gemessen. Dazu wurden die Geräte COSMED Quark RMR 1.0 und 2.0 mit zugehöriger Canopy-Haube verwendet (s. **Abb. 20**). Die Proband:innen lagen 30 Minuten in entspannter



Abb. 20: COSMED Quark RMR

(<https://www.cosmed.com/de/produkte/indirekte-kalorimetrie/quark-rmr> [01.11.2019])
Rückenlage, ohne einzuschlafen, zu sprechen oder sich zu bewegen. Nach Überstülpen der Atemhaube musste der Luftdurchsatz der Pumpe mit einem Drehregler so eingestellt werden, dass die ausgeatmete CO_2 -Konzentration (FeCO_2) bei 0,9 – 1,1 % lag, bevor man mit der Messung beginnen konnte. Unter Berücksichtigung von Geschlecht, Geburtsdatum, Körpergröße und -gewicht wurden die Ergebnisse in der korrespondierenden Software (Quark RMR 10.0e, Omina 1.5) dargestellt und im Anschluss ausgedruckt und in die „Datenmanagement“ Excel-Tabelle übertragen (vgl. Anh. 21).

3.1.2.9 Blutentnahmen

Allen Teilnehmenden wurden 34,6 ml Nüchternblut in Ethylen-diamintetraessigsäure-(EDTA-)Röhrchen mit/ohne Trenngel und in Serum-Gel-Röhrchen abgenommen. Einen Überblick über das Vorgehen gibt **Tab. 3**. Die Blutentnahmen wurden standardisiert gemäß der SOP für Blutentnahmen durchgeführt (vgl. Anh. 22). Für die erste Blutprobe (P01) wurden 20,7 ml abgenommen, verteilt auf ein 9 ml-EDTA-Röhrchen ohne Trenngel, ein 2,7 ml-EDTA-Röhrchen ohne Trenngel und ein 9 ml-Serum-Gel-Röhrchen. Für die zweite Blutprobe (P02) wurden 13,9 ml abgenommen, verteilt auf ein 4,9 ml-EDTA-Röhrchen mit Trenngel und ein 9 ml-Serum-Gel-Röhrchen.

Tab. 3: Überblick über die verwendeten Monovetten zur Blutentnahme

Blutprobe	Monovetten	Blutvolumen
P01	9 ml EDTA ohne Trenngel	20,7 ml
	2,7 ml EDTA ohne Trenngel	
	9 ml Serum-Gel	
P02	4,9 ml EDTA mit Trenngel	13,9 ml
	9 ml Serum-Gel	

Abkürzungen: EDTA=Ethylendiamintetraessigsäure

Die EDTA-Röhrchen wurden auf dem Weg vom Studienzimmer zum Ort der Abnahme zur Studieneinheit zehnmal geschwenkt, um eine Koagulation zu verhindern. Vor der Zentrifugation wurde das Blut des 9 ml- und 4,9 ml-EDTA-Röhrchens (P01 & P02) zur Blutzuckerbestimmung mit dem HemoCue Glucose 201⁺ System verwendet und auf Protein Saver Cards (Whatman 903) fixiert. Anschließend wurden die Röhrchen bei 2500 rcf für 10 min bei 20 °C zentrifugiert. Der Überstand (P01 & P02) und der Buffy Coat (P01) wurden separat in 2 ml-Cryovials pipettiert und umgehend bei -80 °C eingefroren. Das 2,7 ml-EDTA-Röhrchen (P01) wurde lediglich bei Raumtemperatur aufbewahrt bis zum Transport zum SYNLAB-Labor in München am nächsten Tag.

Das Blut der beiden 9 ml-Serum-Gel-Röhrchen (P01 & P02) wurde 30 min lang ohne Bewegung stehen gelassen, um eine Blutgerinnung zu erlauben. Infolgedessen wurde es bei 2500 rcf für 10 min bei 20 °C zentrifugiert, der Überstand in 2 ml-Cryovials pipettiert und diese bei -80 °C eingefroren. Außerdem wurde je ein Gefäß mit 1500 µl Serum pro Blutprobe (P01 & P02) über Nacht in den Kühlschrank gestellt und am nächsten Tag an SYNLAB verschickt.

3.2 Laboranalysen

3.2.1 Externe Laboranalysen

Die in Tab. 4 aufgeführten Parameter wurden extern vom SYNLAB Labor München untersucht. Dabei wurde Vollblut von P01 über Nacht bei Raumtemperatur gelagert. Zudem wurde Serum von P01 und P02 in Cryovials

pipettiert und über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Am nächsten Tag wurden die Proben an SYNLAB verschickt.

Tab. 4: Von SYNLAB analysierte Blutwerte

Parameter	Monovetten	P01	P02
Kleines Blutbild	2,7 ml EDTA ohne Trenngel	×	
Leberwerte			
AST			
ALT			
γ-GT			
Elektrolyte			
Na ⁺			
K ⁺			
Ca ²⁺			
Lipidprofil	9 ml Serum-Gel	×	
Cholesterin			
Triglyceride			
HDL-Cholesterin			
LDL-Cholesterin			
CRP sensitiv			
Schilddrüsenhormone			
TSH basal			
Freies T ₃			
Triglyceride			
CRP sensitiv	9 ml Serum-Gel		×
Freies T ₃			

Abkürzungen: ALT=Alanin-Aminotransferase, AST=Aspartat-Aminotransferase, Ca²⁺=Kalzium, CRP=C-reaktives Protein, EDTA=Ethylendiamintetraessigsäure, γ-GT=γ-Glutamyl-Transferase, K⁺=Kalium, Na⁺=Natrium, T₃=Triiodthyronin, TSH=Thyreoida-stimulierendes Hormon

3.2.2 Interne Laboranalysen

Für alle internen Analysen im Labor der TUM in Freising wurde gefrorenes Blutplasma oder gefrorene Buffy-Coats verwendet. Dieses bzw. diese wurden nach der Blutabnahme von den EDTA-Monovetten in Cryovials pipettiert und anschließend bei -80 °C in einem Gefrierschrank in der Studieneinheit in Freising bzw. in München aufbewahrt. Vor den Analysen wurden die Proben langsam auf Eis aufgetaut. Im Folgenden werden die verschiedenen Assays zur Bestimmung der freien Fettsäuren (Non-esterified fatty acids (NEFA)), von Insulin, von Adiponectin und Leptin sowie zur Genotypisierung beschrieben.

3.2.2.1 NEFA

Die Bestimmung der NEFA-Konzentrationen bei TN und KE mittels Wako NEFA-HR(2)-Kits übernahmen Laura Mengel und Carolin Kehrberger. Zuerst wurden die Reagenzien R₁ und R₂ hergestellt, indem Farbreagenz A (Acyl-CoA-Synthetase, Coenzym A, Adenosin-5-Triphosphat-Dinatriumsalz, 4-Aminoantipyrin, Ascorbat-Oxidase, Natriumazid) mit Lösung A (Phosphat-Puffer (pH 7,0), Natriumazid) und Farbreagenz B (Acyl-CoA-Oxidase, Peroxidase) mit Lösung B (3-Methyl-N-Ethyl-N-(β-Hydroxyethyl)-Anilin) gut gemischt wurden. Im nächsten Schritt wurde die NEFA Standardlösung (1 mmol/l; S₁) mit destilliertem Wasser gemischt, um die folgenden elf Verdünnungsstufen zu erhalten (S₂ – S₁₂): 0,9, 0,8, 0,7, 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2, 0,1, 0,05, 0,025 mmol/l. 7 µl des Blanks (destilliertes Wasser), der Standards S₁ – S₁₂, der Kontrolle und der Plasmaproben wurden in eine 96-Well Mikrotiterplatte in jeweils zwei Wells zur Doppelwertbestimmung pipettiert.

Zur Bestimmung der NEFA-Konzentration in den Wells wurde das Tecan Infinite M200 Photometer verwendet. Die Extinktion (E) als Ausmaß der Abschwächung von Licht, wenn es durch ein Medium tritt, kann mit nachstehender Formel berechnet werden:

$$E = \lg\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

Hierbei ist I₀ die Intensität des Lichtes vor der Wechselwirkung und I die Intensität nach der Wechselwirkung mit dem Medium. Die Extinktion wird auch als optische Dichte bezeichnet. Da nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz die Extinktion direkt proportional zur Konzentration der absorbierenden Substanz ist, kann die Konzentration über die Extinktion bestimmt werden. (Harms 2016, S. 222 f.)

Nach Vorbereiten der Injektoren des Photometers mit den Reagenzien R₁ und R₂ (jeweils 600 µl) wurden 15 µl der Reagenzien zu den Wells hinzugefügt. Die Mikrotiterplatte wurde in das Photometer eingelegt. Nach Hinzufügen der

Reagenzien zu den NEFA wurde durch oxidative Kupplung ein blau-violetter Farbkomplex gebildet. Die Messung der Extinktion der blau-violetten Farbe bei den Wellenlängen 546 und 660 nm wurde von dem Photometer und der zugehörigen Software i-control 1.7 vollzogen.

Durch Auftragen der mittleren Extinktion (546 – 660 nm) von jedem Standard (y-Achse) gegen ihre jeweilige Konzentration (x-Achse) in logarithmischer Skalierung wurde eine Standardkurve für die NEFA in GraphPad PRISM Version 5.2 erstellt. Anschließend konnte die NEFA-Konzentration direkt von dieser Standardkurve abgelesen werden. Allerdings musste der jeweilige Verdünnungsfaktor mit berücksichtigt werden.

3.2.2.2 *Insulin*

Auch die Bestimmung der Insulin-Konzentrationen im Blutplasma wurde von Laura Mengel und Carolin Kehrberger übernommen. Es wurde das DRG Insulin ELISA (EIA-2935) Kit verwendet. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) bezeichnet ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren.

Zunächst wurde die 40-fach konzentrierte Wash Solution (30 ml) mit 1170 ml destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1200 ml verdünnt.

Es folgte die eigentliche Testdurchführung. Die benötigte Anzahl Wells wurde in der Halterung befestigt und 25 µl Standard, Kontrollen und Proben in die entsprechenden Wells gegeben. Anschließend wurden 25 µl Enzyme Conjugate hinzugefügt und die Platte für 10 s gut geschüttelt. Es wurde für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Nun wurde der Inhalt der Wells kräftig ausgeschüttelt und die Wells dreimal mit verdünnter Wash Solution (400 µl) gewaschen. Verbleibende Flüssigkeit wurde durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernt. Im Anschluss wurden 50 µl Enzyme Complex zu jedem Well hinzugefügt und wieder für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgte ein weiterer Waschschrift wie bereits beschrieben. 50 µl Substrate Solution wurden in jedes Well gegeben und für 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die enzymatische Reaktion wurde durch Zugabe von 50 µl Stop

Solution abgestoppt. Es wurde umgehend die optische Dichte bei 450 nm mithilfe des Tecan Photometers Infinite M200 und der zugehörigen Software i-control 1.7 bestimmt. Die Konzentrationen wurden, wie es bereits für die NEFA erklärt wurde, aus der Eichkurve ermittelt.

3.2.2.3 *Adiponectin und Leptin*

Die Plasmakonzentrationen von Adiponectin und Leptin wurden mithilfe des DuoSet ELISA Development Kits von R&D Systems bestimmt. Da sich die Assays für Adiponectin und Leptin sehr ähnlich sind, werden sie beide in diesem Kapitel erklärt.

Im ersten Schritt wurden die Reagenzien Capture Antibody, Detection Antibody, Standard und Streptavidin-Meerrettichperoxidase (Streptavidin-HRP) vorbereitet:

- Capture Antibody:
 - Adiponectin: Der Capture Antibody wurde zu einer Arbeitskonzentration von 2,0 µg/ml in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) verdünnt.
 - Leptin: Der Capture Antibody wurde auf 4,0 µg/ml in PBS verdünnt.
- Detection Antibody:
 - Adiponectin: Der Detection Antibody wurde zu einer Arbeitskonzentration von 1 µg/ml in Reagent Diluent (1 % bovines Serumalbumin (BSA) in PBS) verdünnt.
 - Leptin: Der Detection Antibody wurde auf 12,5 ng/ml in Reagent Diluent verdünnt.
- Standard: Insgesamt sieben Standards wurden über Herstellung einer Verdünnungsreihe zu folgenden Konzentrationen verdünnt:
 - Adiponectin: 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125 und 62,5 pg/ml
 - Leptin: 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5 und 31,25 pg/ml
- Streptavidin-HRP:

- Adiponectin: Das Streptavidin-HRP-Konjugat wurde 200-fach in Reagent Diluent verdünnt.
- Leptin: Das Streptavidin-HRP-Konjugat wurde 40-fach in Reagent Diluent verdünnt.

Als nächstes wurden die Mikrotiterplatten vorbereitet. Dazu wurde eine 96-Well Mikrotiterplatte mit 100 µl pro Well des verdünnten Capture Antibodys gecoatet, mit Aluminiumfolie bedeckt und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgte ein Waschschrift, indem jedes Well insgesamt dreimal mit 300 µl Wash Buffer (0,05 % Tween 20 in PBS) gefüllt und anschließend die Flüssigkeit wieder vollständig entfernt wurde. Nach der letzten Waschung wurde jeglicher verbliebene Wash Buffer durch Umdrehen der Platte und Andrücken gegen saubere Papiertücher entfernt. Es wurden 300 µl Reagent Diluent zu jedem Well hinzugefügt und für mindestens 1 h bei Raumtemperatur inkubiert. Im Anschluss wurde ein weiterer Waschschrift wie oben beschrieben durchgeführt.

Es folgte der eigentliche Assay. 100 µl Standard, Probe oder Kontrolle pro Well wurden hinzugefügt, die Platte mit einem Klebestreifen bespannt und für 2 h bei Raumtemperatur inkubiert. Als nächstes wurde ein weiterer Waschschrift (wie oben) durchgeführt. Es wurden 100 µl des Detection Antibodys zu jedem Well hinzugefügt, die Platte wieder mit einem Klebestreifen überzogen und für weitere 2 h bei Raumtemperatur inkubiert. Es folgte wiederum ein Waschschrift. 100 µl der Streptavidin-HRP wurden zu jedem Well hinzugefügt und die Mikrotiterplatte für 20 min bei Raumtemperatur unter einer Aluminiumfolie inkubiert. Der Waschschrift wurde ein letztes Mal wiederholt. Nach Hinzufügen von 100 µl der Substrate Solution (1:1-Mischung aus Color Reagent A (H_2O_2) und Color Reagent B (Tetramethylbenzidin)) zu jedem Well wurde die Platte für weitere 20 min bei Raumtemperatur unter einer Aluminiumfolie inkubiert. Zuletzt wurden noch 50 µl der Stop Solution (2 N H_2SO_4) zu jedem Well hinzugefügt und umgehend die optische Dichte bei 450 und 540 nm mithilfe des Tecan Photometers Infinite M200 und der zugehörigen

Software i-control 1.7 bestimmt. Die Konzentrationen wurden so, wie es bereits für die NEFA erklärt wurde, ermittelt.

3.2.2.4 Genotypisierung

Im ersten Schritt wurde die DNA mithilfe des DNeasy Blood & Tissue Kits (250) von QIAGEN isoliert. Die DNA-Isolierung wurde von Laura Mengel durchgeführt. Dazu wurden in 1,5 ml DNA LoBind Tubes 100 µl der Buffy Coats mit 20 µl Proteinase K, 4 µl RNase A und 100 µl PBS vermischt und für 2 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden 200 µl AL-Puffer zugegeben und für 10 min bei 56 °C inkubiert. 200 µl Ethanol wurden hinzugefügt, der Inhalt in eine Spin Column überführt und bei 8000 g für 1 min zentrifugiert. Die Säule wurde auf einem neuen Collection Tube platziert und das alte Collection Tube verworfen. Anschließend wurden 500 µl AW1-Puffer zugegeben und erneut bei 8000 g für 1 min zentrifugiert. Die Säule wurde wieder auf einem neuen Collection Tube platziert und das alte verworfen. Nach Hinzufügen von 500 µl AW2-Puffer wurde bei 14000 g für 3 min zentrifugiert, infolgedessen wurde die Säule auf einem neuen DNA LoBind Tube platziert. Es wurden 60 µl AE-Puffer direkt auf die Membran gegeben und bei 8000 g für 1 min zentrifugiert. Im Anschluss wurden noch 40 µl AE-Puffer direkt auf die Membran gegeben und wiederum bei 8000 g für 1 min zentrifugiert. Schließlich wurde die Konzentration mithilfe des Tecan Photometers Infinite M200 und der zugehörigen Software i-control 1.7 bestimmt und die Proben bei 20 °C gelagert.

Die daran anschließende Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ist eine Methode zur Amplifikation (Vervielfältigung) spezifischer DNA-Abschnitte aus sehr kleinen Mengen Ausgangs-DNA. Das Prinzip basiert dabei auf einer zyklischen Vervielfältigung eines Abschnitts doppelsträngiger DNA. Benötigte Materialien sind:

- Hitzestabile DNA-Polymerase (z.B. Taq-Polymerase)
- Zwei sequenzspezifische Primer

- DNA-Template
- Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTPs)
- Magnesiumchlorid ($MgCl_2$)
- Pufferlösung

Die PCR umfasst 20 – 40 Zyklen. Jeder Zyklus besteht aus folgenden drei Schritten (s. **Abb. 21**):

- **Denaturierung.** Die doppelsträngige DNA wird durch Erhöhung der Temperatur auf ca. $95\text{ }^\circ\text{C}$ in Einzelstränge getrennt.
- **Annealing.** Die Primer binden bei ca. $50\text{ }^\circ\text{C}$ – $60\text{ }^\circ\text{C}$ an die komplementäre DNA-Sequenz.
- **Elongation.** Die DNA-Polymerase verlängert die Primer an deren 3'-Ende bei einer Temperatur von ca. $70\text{ }^\circ\text{C}$.

Ergebnis ist, dass sich die gewünschte DNA je nach Anzahl der Zyklen um den Faktor 10^6 – 10^{12} vervielfältigt. (Rassow et al. 2012, S. 482 ff.)

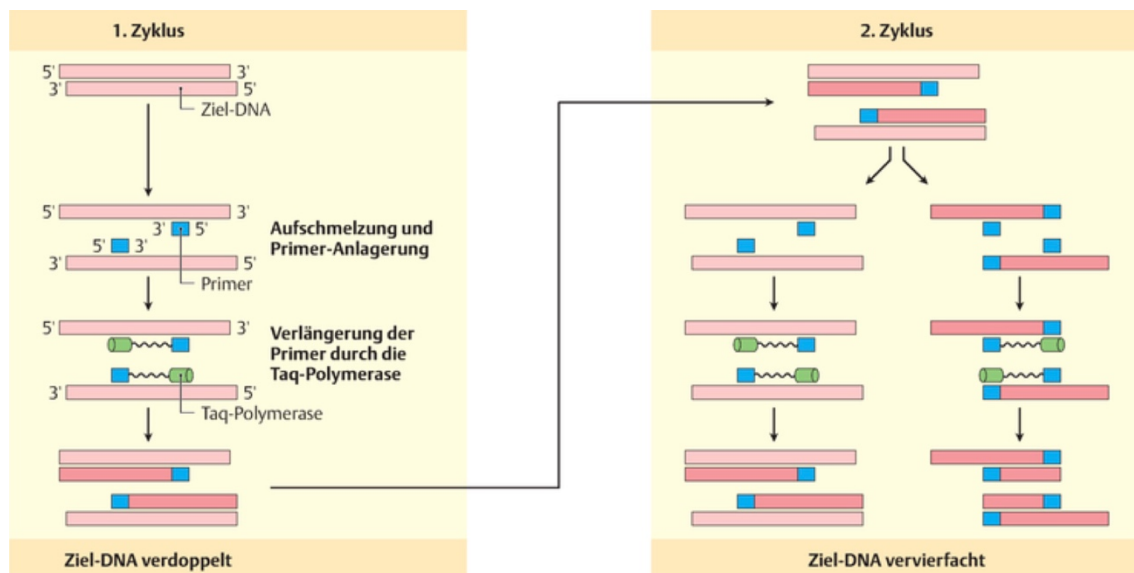


Abb. 21: Vervielfältigung einer spezifischen DNA-Sequenz mittels PCR

(Rassow et al. 2012, S. 483)

Die PCR wurde mit dem Q5 High-Fidelity 2X Master Mix von New England BioLabs durchgeführt. Die Primer hatten folgende Sequenzen:

- Forward Primer: 5' CTG CTT CTC ACC CCA AAC CAA 3'

- Reverse Primer: 5‘ AGT TGA AGT CGT CGT AGC CAG 3‘

Zunächst wurden auf Eis 12 µl Master Mix (Q5 High-Fidelity 2X Master Mix und die beiden Primer) mit 8 µl DNA in Wasser (mit einer DNA-Konzentration von 6,25 ng/µl) in einer 96-Well Mikrotiterplatte vermischt. Die Kontrollen enthielten nur die 12 µl Master Mix mit 8 µl Wasser ohne DNA. Im Anschluss wurde im Thermocycler (Eppendorf Mastercycler gradient) die PCR durchgeführt (s. Tab. 5).

Tab. 5: PCR-Protokoll

	Temperatur	Dauer
Initiale Denaturierung	98 °C	30 s
30 PCR-Zyklen		
Denaturierung	98 °C	8 s
Annealing	68 °C	30 s
Elongation	72 °C	20 s
Finale Elongation	72 °C	120 s
Lagerung	4 °C	∞

Abkürzungen: PCR=Polymerase-Kettenreaktion

Die Genotypisierung des GNB3 C825T Polymorphismus wurde bei Eurofins Genomics in Ebersberg durchgeführt. Das Fat mass and obesity-associated gene (FTO-Gen) wurde nicht mit in diese Dissertation eingeschlossen, es wird in einer separaten Doktorarbeit von Laura Mengel besprochen. Außerdem entstand in diesem Forschungsprojekt eine Masterarbeit von Carolin Kehrberger, die sich besonders mit den metabolischen Veränderungen durch moderate Kälteexposition befasst.

3.3 Statistische Auswertung

Da die FREECE-Studie zum Zeitpunkt der Datenauswertung noch fortlaufend war, handelte es sich hierbei lediglich um eine Zwischenanalyse der ersten 156 Proband:innen. Die Daten wurden in einer Excel-Tabelle („Datenmanagement“) verwaltet. Die statistische Auswertung und die Erstellung etwaiger Tabellen und Diagramme erfolgte in Excel 16, PRISM 8 und SPSS 23. Es wurden Analysen des Gesamtkollektivs sowie gruppiert nach

Genotyp durchgeführt. Die Ergebnisse der deskriptiven Statistik wurden als Median und Interquartilsabstand [IQR] angegeben, die Unterschiede der Werte zwischen TN und KE als prozentualer Anteil. Zum Vergleich zwischen erwarteter und beobachteter Häufigkeit bei kategorialen Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet. Da die Daten nicht normalverteilt waren, wurden nichtparametrische Tests angewandt, im Einzelnen die folgenden: Zum Vergleich zwischen den Genotypen wurde der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Zum Vergleich zwischen TN und KE wurde der Vorzeichen-Test durchgeführt. Es wurden außerdem einfache und multiple lineare Regressionsanalysen zwischen verschiedenen unabhängigen Variablen und der kälteinduzierten Thermogenese (KIT) gerechnet. Ergebnisse wurden als statistisch signifikant angesehen, wenn der p -Wert kleiner als 5 % war.

4. Ergebnisse

Nun werden die Hauptergebnisse aus der statistischen Auswertung beschrieben.

4.1 Baseline-Charakteristika der Studienteilnehmenden

Insgesamt wurden die Daten von 156 Proband:innen ausgewertet. Davon hatten 73 den Genotypen CC, 66 den Genotypen CT und 17 den Genotypen TT (s. Kap. 4.2). Wie in **Tab. 6** dargestellt, lag das mediane Alter bei 25 [23–27] Jahren. Es nahmen 79 Frauen (= 50,6 %) und 77 Männer (= 49,4 %) an der Studie teil. Das mediane Gewicht betrug 73,1 [64,8–84,8] kg bei einer medianen Größe von 175,5 [169,8–184,6] cm. Die mediane Fettmasse betrug 14,4 [10,1–19,8] kg bzw. 21,0 [14,0–28,0] %, die mediane fettfreie Masse betrug 56,9 [46,8–68,0] kg. Der BMI lag bei 23,2 [21,6–25,0] kg/m². Es wurden mehr normalgewichtige (75,0 %) als übergewichtige und adipöse (25,0 %) Proband:innen untersucht. Insgesamt zeigten sich hinsichtlich der Baseline-Charakteristika der Studienteilnehmenden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Tab. 6: Baseline-Charakteristika der Studienteilnehmenden

Charakteristika	GNB3 C825T-Polymorphismus				<i>p</i> -Wert
	Gesamt (<i>n</i> =156)	CC (<i>n</i> =73)	CT (<i>n</i> =66)	TT (<i>n</i> =17)	
Alter	25 [23–27]	25 [23–27]	26 [24–28]	25 [23–27]	0,395
Geschlecht					0,064
Weiblich	<i>n</i> =79 50,6%	<i>n</i> =44 60,3%	<i>n</i> =29 43,9%	<i>n</i> =6 35,3%	
Männlich	<i>n</i> =77 49,4%	<i>n</i> =29 39,7%	<i>n</i> =37 56,1%	<i>n</i> =11 64,7%	
Gewicht (kg)	73,1 [64,8–84,8]	72,3 [64,3–81,7]	74,8 [64,8–87,4]	74,0 [66,3–77,9]	0,359
Größe (cm)	175,5 [169,8–184,6]	174,2 [166,8–181,0]	177,7 [171,6–186,0]	176,5 [170,5–183,2]	0,097
Fettmasse (kg)	14,4 [10,1–19,8]	14,3 [11,3–19,7]	14,7 [9,7–20,1]	13,7 [8,6–16,3]	0,378
Fettmasse (%)	21,0 [14,0–28,0]	23,1 [15,0–29,3]	20,0 [14,0–27,1]	17,8 [10,2–24,9]	0,263
Fettfreie Masse (kg)	56,9 [46,8–68,0]	52,0 [46,6–67,8]	61,8 [47,2–70,4]	62,9 [50,6–66,5]	0,284
BMI (kg/m ²)	23,2 [21,6–25,0]	23,6 [22,0–24,6]	23,0 [21,4–26,1]	22,8 [21,4–24,3]	0,750
BMI-Kategorien					0,481
Normalgewichtig	<i>n</i> =117 75,0%	<i>n</i> =58 79,5%	<i>n</i> =46 69,7%	<i>n</i> =13 76,5%	
Übergewichtig	<i>n</i> =27 17,3%	<i>n</i> =12 16,4%	<i>n</i> =12 18,2%	<i>n</i> =3 17,6%	
Adipös	<i>n</i> =12 7,7%	<i>n</i> =3 4,1%	<i>n</i> =8 12,1%	<i>n</i> =1 5,9%	

Abkürzungen: BMI=Body-Mass-Index

4.2 Genotypisierung

Abb. 22 zeigt das Ergebnis der Genotypisierung des GNB3 C825T-Polymorphismus. Der Anteil an T-Allel-Träger:innen (homozygot und heterozygot) belief sich auf 53,2 % und die Frequenz des 825T-Allels auf 32,1 %. Die Verteilung entsprach dem Hardy-Weinberg-Gleichgewicht.

GNB3 C825T-Polymorphismus

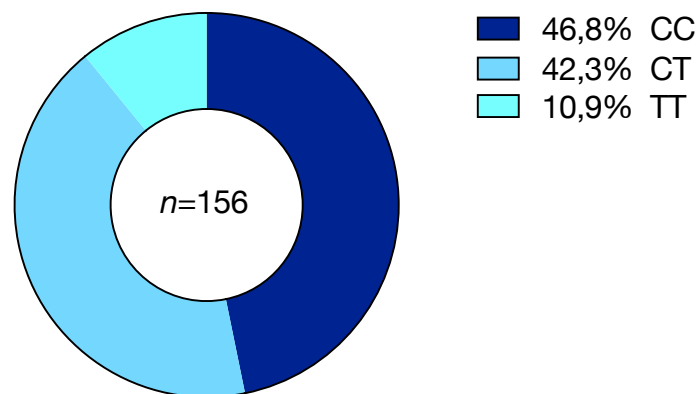


Abb. 22: Verteilung der Genotypen

4.3 Ernährungsprotokoll

Das Ernährungsprotokoll wurde von 155 Proband:innen (73 CC-Genotypen, 66 CT-Genotypen und 16 TT-Genotypen) bearbeitet. Die Energie- und Makronährstoffaufnahme wurde mit OptiDiet ermittelt. Abb. 23 und 24 zeigen den Anteil an Kohlenhydraten (4 kcal/g), Fett (9 kcal/g) und Eiweiß (4 kcal/g) an der täglichen Energiezufuhr in den drei Tagen vor und einen Tag vor der Studie, jeweils getrennt nach Genotyp. Unter „andere“ Energieträger fällt z.B. Alkohol (7 kcal/g).

Die mittlere Energiezufuhr in den drei Tagen vor Untersuchungsbeginn war 2170 [1860 – 2790] kcal/d. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen ($p = 0,847$). Der Anteil an Kohlenhydraten betrug insgesamt 42,1 %, der an Fett 35,7 % und der an Eiweiß 15,6 %. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen ($p_{\text{Kohlenhydrate}} = 0,595$, $p_{\text{Fett}} = 0,677$, $p_{\text{Eiweiß}} = 0,919$).

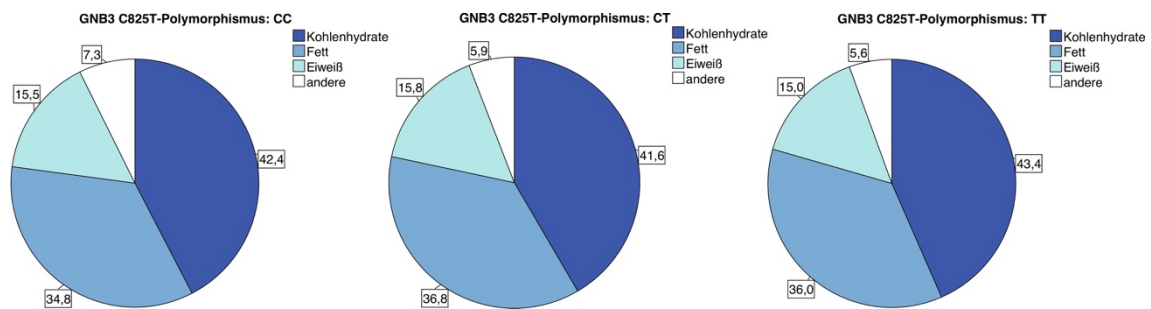


Abb. 23: Makronährstoffzusammensetzung in den drei Tagen vor der Studie

Die mittlere Energiezufuhr am Tag vor Untersuchungsbeginn war 2041 [1656 – 2510] kcal/d. Es gab wiederum keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen ($p = 0,750$). Der Anteil an Kohlenhydraten belief sich auf 42,9 %, der an Fett auf 37,4 % und der an Eiweiß auf 15,9 %. Es lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen vor ($p_{\text{Kohlenhydrate}} = 0,841$, $p_{\text{Fett}} = 0,320$, $p_{\text{Eiweiß}} = 0,987$).

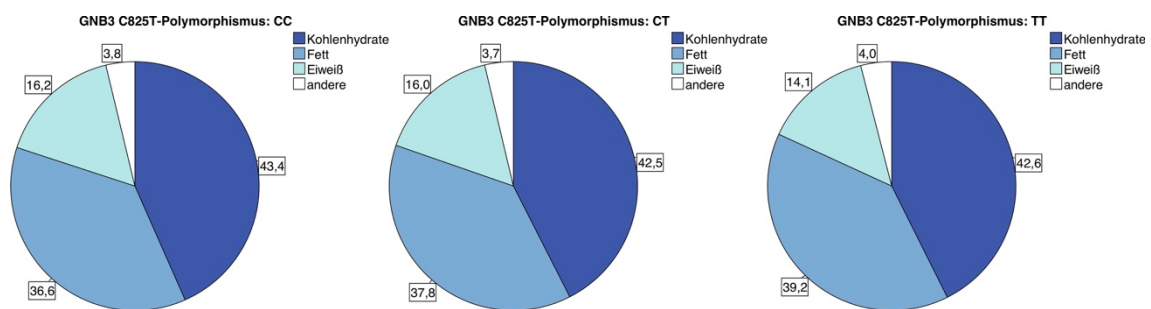


Abb. 24: Makronährstoffzusammensetzung am Tag vor der Studie

4.4 Anamnesebogen

Mithilfe des Anamnesebogens wurden u.a. Zyklushälfte, Schlafdauer, Sport im Winter und im Sommer sowie Schulabschluss erfasst.

Von den 79 Frauen hatten 78 einen Zyklus. Davon befanden sich 43 in der ersten Zyklushälfte und 28 in der zweiten Zyklushälfte; bei sieben war es unklar.

Die Verteilung innerhalb der verschiedenen Genotypen ist in **Tab. 7** dargestellt. Es zeigte sich keine signifikant unterschiedliche Verteilung innerhalb der Genotypen ($p = 0,889$).

Tab. 7: Zyklushälfte nach Genotyp

Zyklushälfte	GNB3 C825T-Polymorphismus			
	Gesamt ($n=78$)	CC ($n=44$)	CT ($n=28$)	TT ($n=6$)
	n (=%)			
1.	43 (=55,1%)	24 (=54,5%)	16 (=57,1%)	3 (=50,0%)
2.	28 (=35,9%)	16 (=36,4%)	9 (=32,1%)	3 (=50,0%)
Unklar	7 (=9,0%)	4 (=9,1%)	3 (=10,7%)	0 (=0,0%)

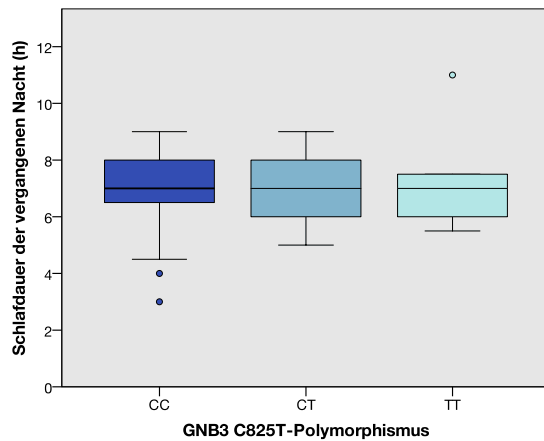
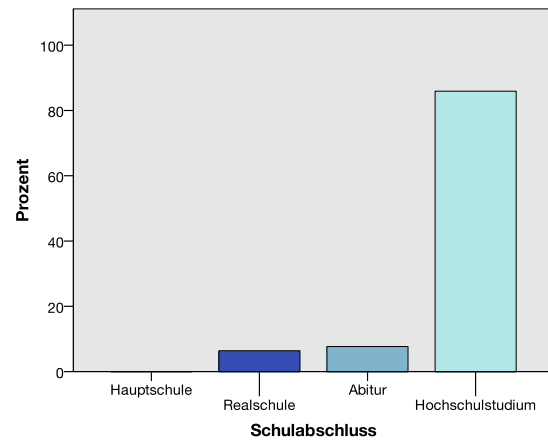
Die sportliche Betätigung der Proband:innen wurde in vier Kategorien unterteilt: keine, < 1 h/Woche, $1 - 2$ h/Woche und > 2 h/Woche. Wie man **Tab. 8** entnehmen kann, waren die Teilnehmenden im Sommer aktiver als im Winter. Dabei gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Unter allen Proband:innen betrug die mediane Schlafdauer $7,0$ [$6,3 - 7,8$] h. Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen feststellbar ($p = 0,411$; s. **Abb. 25**).

$85,9$ % der Teilnehmenden hatten ein abgeschlossenes Hochschulstudium hinter sich, $7,7$ % hatten als höchsten Bildungsabschluss Abitur und $6,4$ % einen Realschulabschluss; es gab keine Teilnehmenden, die nur einen Hauptschulabschluss hatten (s. **Abb. 26**). Dabei lagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen vor ($p = 0,082$).

Tab. 8: Sportliche Betätigung nach Genotyp

Sportliche Betätigung	GNB3 C825T-Polymorphismus				<i>p</i> -Wert
	Gesamt (<i>n</i> =156)	CC (<i>n</i> =73)	CT (<i>n</i> =66)	TT (<i>n</i> =17)	
Winter					0,444
Keine	6	3	1	2	
<1h/Woche	12	6	6	0	
1–2h/Woche	35	16	14	5	
>2h/Woche	103	48	45	10	
Sommer					0,474
Keine	0	0	0	0	
<1h/Woche	3	3	0	0	
1–2h/Woche	20	9	9	2	
>2h/Woche	133	61	57	15	

**Abb. 25:** Schlafdauer nach Genotyp**Abb. 26:** Schulabschluss

4.5 Physiologische Messungen

Systolischer RR, diastolischer RR und HF wurden bei TN und nach KE gemessen. Die Werte sind zusammen mit der Differenz als prozentualer Anteil in **Tab. 9** abgebildet.

Der systolische RR bei TN betrug im Median 115 [108–126] mmHg. Der RR von Genotyp TT (125 [115–128] mmHg) war dabei höher als der von Genotyp CC (113 [105–124] mmHg) bzw. CT (115 [109–121] mmHg), jedoch nicht signifikant ($p = 0,051$). Nach KE war der systolische RR bei 120 [112–129] mmHg. Der RR von Genotyp TT (122 [117–134] mmHg) war dabei wiederum höher als der RR von Genotyp CC (118 [110–127] mmHg) bzw. CT (121 [113–130] mmHg), jedoch nicht signifikant ($p = 0,063$). Der systolische RR stieg nach KE insgesamt signifikant

um 5 mmHg (3,8 %) an. Lediglich in der Gruppe von Genotyp TT fand sich kein RR-Anstieg ($p = 0,143$).

Der diastolische RR bei TN war im Median bei 76 [71–80] mmHg. Nach KE lag der diastolische RR bei 81 [77–86] mmHg. Der diastolische RR stieg also nach KE ebenfalls signifikant an um 5 mmHg (7,0 %). Zwischen den Genotypen gab es dabei keine signifikanten Unterschiede.

Die HF bei TN lag im Median bei 69 [59–76] Schlägen pro Minute. Nach KE betrug die HF nur noch 62 [54–70] Schläge pro Minute. Die HF sank somit signifikant um 7 Schläge pro Minute (–7,7 %). Zwischen den Genotypen gab es keine signifikanten Unterschiede.

Tab. 9: Physiologische Messungen

Parameter	GNB3 C825T-Polymorphismus				p-Wert
	Gesamt (n=156)	CC (n=73)	CT (n=66)	TT (n=17)	
	Median [IQR]				
Systolischer RR (mmHg)					
TN	115 [108–126]	113 [105–124]	115 [109–121]	125 [115–128]	0,051
KE	120 [112–129]	118 [110–127]	121 [113–130]	122 [117–134]	0,063
Δ (%) ¹	3,8 [–0,9 bis 7,7]	3,5 [–0,4 bis 7,4]	4,1 [–0,9 bis 8,0]	3,4 [–0,9 bis 6,6] ²	0,751
Diastolischer RR (mmHg)					
TN	76 [71–80]	75 [71–80]	75 [70–80]	77 [73–81]	0,374
KE	81 [77–86]	80 [75–85]	81 [76–86]	84 [83–90]	0,063
Δ (%) ¹	7,0 [1,7–11,8]	6,5 [1,3–11,0]	7,6 [2,5–12,3]	8,3 [4,5–11,4]	0,441
HF (Schläge pro Minute)					
TN	69 [59–76]	69 [60–76]	69 [58–75]	71 [53–77]	0,911
KE	62 [54–70]	64 [54–70]	61 [55–69]	61 [52–68]	0,788
Δ (%) ¹	–7,7 [–15,8 bis –1,4]	–8,2 [–14,9 bis –1,6]	–7,3 [–16,0 bis 0,0]	–12,8 [–15,6 bis –1,9]	0,791

¹ Alle Differenzen nach KE waren $p < 0,05$, wenn nicht anders angegeben.

² Differenz nach KE war *n.s.*

Abkürzungen: Δ =Differenz nach Kälteexposition, HF=Herzfrequenz, KE=Kälteexposition, RR=Blutdruck, TN=Thermoneutralität

4.6 Temperaturmessungen

Es wurden die mittlere, maximale und minimale Körperkerntemperatur sowie die mittlere Körperoberflächentemperatur, die mittlere supraklavikuläre Temperatur und die mittlere Brusttemperatur bei TN und KE ausgewertet. Von 154 Studienteilnehmenden lagen die kompletten Temperaturdaten vor. In **Tab. 10** sind die einzelnen Werte zusammen mit der prozentualen Differenz dargestellt.

Die mittlere Körperkerntemperatur betrug 36,8 [36,5 – 37,0] °C. Sie sank signifikant von im Median 37,0 [36,8 – 37,2] °C auf 36,5 [36,3 – 36,8] °C (– 1,1 %). Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Genotyp CT wies eine signifikant niedrigere mittlere Körperoberflächentemperatur bei TN auf als die beiden anderen Genotypen (33,9 [33,6 – 34,2] °C (CT) vs. 34,0 [33,8 – 34,3] °C (CC) bzw. 34,1 [33,9 – 34,4] °C (TT)). Die Körperoberflächentemperatur sank insgesamt signifikant um 3,5 °C (– 10,3 %). Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen feststellbar.

Der iButton, der in der supraklavikulären Region fixiert wurde, zeigte keine signifikante Temperaturabnahme ($p = 0,518$). Es gab zudem keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Die mittlere Brusttemperatur bei TN war bei Genotyp CT signifikant niedriger als bei den anderen Genotypen (34,6 [34,1 – 35,0] °C (CT) vs. 34,9 [34,3 – 35,2] °C (CC) bzw. 34,7 [34,6 – 35,1] °C (TT)). Die Brusttemperatur sank signifikant um 0,8 °C (– 2,4 %). Es zeigten sich dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Tab. 10: Temperaturmessungen

Parameter	GNB3 C825T-Polymorphismus				p-Wert
	Gesamt (n=156)	CC (n=73)	CT (n=66)	TT (n=17)	
	Median [IQR]				
Körperkerntemperatur (°C)					
Mittlere	36,8 [36,5–37,0]	36,8 [36,6–37,2]	36,7 [36,5–36,9]	36,7 [36,5–37,1]	0,161
Maximale	37,0 [36,8–37,2]	37,0 [36,8–37,4]	36,9 [36,7–37,2]	37,1 [36,8–37,2]	0,255
Minimale	36,5 [36,3–36,8]	36,6 [36,3–36,9]	36,5 [36,2–36,7]	36,6 [36,2–36,8]	0,136
Δ (%) ¹	-1,1 [-1,6 bis -1,1]	-1,1 [-1,6 bis -1,1]	-1,1 [-1,6 bis -0,8]	-1,3 [-1,7 bis -1,1]	0,755
Mittlere Körperoberflächentemperatur (°C)					
TN	34,0 [33,7–34,3]	34,0 [33,8–34,3]	33,9 [33,6–34,2]	34,1 [33,9–34,4]	0,040
KE	30,5 [29,4–31,2]	30,7 [29,9–31,2]	30,2 [29,4–31,2]	29,9 [29,3–31,2]	0,254
Δ (%) ¹	-10,3 [-13,3 bis -8,4]	-9,8 [-12,7 bis -8,0]	-10,8 [-13,7 bis -8,4]	-11,6 [-14,6 bis -8,7]	0,364 ²⁵
Mittlere supraklavikuläre Temperatur (°C)					
TN	35,8 [35,3–36,1]	35,8 [35,4–36,2]	35,6 [35,1–36,0]	35,6 [35,5–36,2]	0,116
KE	35,7 [35,2–36,2]	35,8 [35,4–36,2]	35,7 [35,2–36,1]	35,5 [35,1–36,1]	0,264
Δ (%) ¹	-0,1 [-1,1 bis 0,8] ²	-0,0 [-1,1 bis 0,7] ²	-0,1 [-1,3 bis 0,8] ²	-0,1 [-1,0 bis 0,7] ²	0,996
Mittlere Brusttemperatur (°C)					
TN	34,7 [34,3–35,1]	34,9 [34,3–35,2]	34,6 [34,1–35,0]	34,7 [34,6–35,1]	0,049
KE	33,9 [32,9–34,7]	34,1 [33,2–34,7]	33,7 [32,6–34,7]	33,7 [33,3–34,2]	0,183
Δ (%) ¹	-2,4 [-5,0 bis -0,5]	-2,4 [-4,7 bis -0,3]	-2,7 [-5,2 bis -0,1]	-2,4 [-5,0 bis -1,5]	0,678

¹ Alle Differenzen nach KE waren $p < 0,05$, wenn nicht anders angegeben.

² Differenz nach KE war *n.s.*

Abkürzungen: Δ =Differenz nach Kälteexposition, KE=Kälteexposition, TN=Thermoneutralität

4.7 Individualisiertes Kühlprotokoll

Anhand das individualisierten Kühlprotokolls der FREECE-Studie wurde die Toleranztemperatur der Proband:innen bestimmt. Die mediane Toleranztemperatur lag bei 22,8 [21,0 24,2] °C. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Genotypen ($p = 0,852$; s. **Abb. 27**).

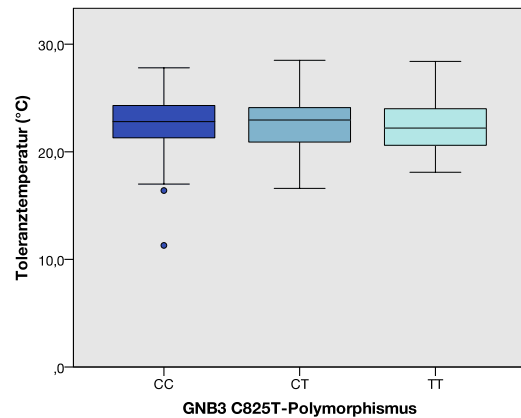


Abb. 27: Toleranztemperatur nach Genotyp

4.8 Indirekte Kalorimetrie

GU und RQ wurden mittels indirekter Kalorimetrie bei TN und KE bestimmt. Die Werte sowie ihre prozentuale Differenz beim GU handelte es sich dabei um die KIT sind in **Tab. 11** abgebildet.

Der GU bei TN lag im Median bei 1615 [1432 1829] kcal/d. Der GU bei KE lag bei 1720 [1510 1960] kcal/d. Die Zunahme des GU nach KE (= KIT) war signifikant und betrug 105 kcal/d (5,5 [0,5 bis 18,3] %). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Der RQ bei TN war 0,79 [0,75 0,84]. Der RQ bei KE war 0,76 [0,73 0,80]. Der RQ nahm nach KE insgesamt signifikant um 0,03 (4,8 %) ab. Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Tab. 11: Indirekte Kalorimetrie

Parameter	GNB3 C825T-Polymorphismus				<i>p</i> -Wert
	Gesamt (<i>n</i> =156)	CC (<i>n</i> =73)	CT (<i>n</i> =66)	TT (<i>n</i> =17)	
	Median [IQR]				
GU (kcal/d)					
TN	1615 [1432–1829]	1573 [1410–1803]	1661 [1441–1834]	1639 [1438–1816]	0,618
KE	1720 [1510–1960]	1688 [1500–1943]	1727 [1531–1987]	1706 [1578–1934]	0,943
Δ (%) [†]	5,5 [–0,5 bis 18,3]	6,0 [0,2 bis 20,2]	3,8 [–0,9 bis 14,6]	6,6 [2,7 bis 17,4]	0,398
RQ					
TN	0,79 [0,75–0,84]	0,78 [0,73–0,82]	0,82 [0,76–0,85]	0,80 [0,76–0,83]	0,062
KE	0,76 [0,73–0,80]	0,76 [0,71–0,79]	0,77 [0,73–0,80]	0,77 [0,74–0,80]	0,414
Δ (%) [†]	–4,8 [–7,5 bis –1,5]	–4,8 [–6,9 bis –2,4]	–4,9 [–8,9 bis –1,3]	–3,6 [–5,8 bis –1,2]	0,564

[†] Alle Differenzen nach KE waren $p < 0,05$.

Abkürzungen: Δ =Differenz nach Kälteexposition, GU=Grundumsatz, KE=Kälteexposition,

RQ=respiratorischer Quotient, TN=Thermonutralität

4.9 Laborwerte

In **Tab. 12** sind die erfassten Laborwerte – Glucose und Insulin, Leberwerte (AST, ALT, γ -GT), Elektrolyte (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}), Lipidprofil (Cholesterin, Triglyceride, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin) und NEFA, CRP sensitiv, Schilddrüsenhormone (TSH basal, freies T_3) sowie Adiponectin und Leptin aufgelistet. Teilweise handelte es sich dabei um Werte bei TN und KE und ihre prozentuale Differenz, teilweise nur um Werte der ersten Blutentnahme bei TN. Von 153 Proband:innen lagen alle Blutwerte vor.

Der Nüchternblutzucker bei TN lag bei 92 [86 – 97] mg/dl. Der Nüchternblutzucker nach KE lag bei 85 [79 – 92] mg/dl. Er sank insgesamt signifikant um 7 mg/dl (5,8 %). Jedoch war der Abfall nicht signifikant für den Genotyp TT ($p = 0,057$). Beim Insulin zeigte sich insgesamt keine signifikante Veränderung des Wertes ($p = 0,628$) und keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Bei den Leberwerten (Median: AST 18 [14 – 22] U/l, ALT 22 [16 – 29] U/l, γ -GT 13 [9 – 17] U/l) gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Bei den Elektrolyten (Median: Na^+ 141 [140 – 142] mmol/l, K^+ 4,4 [4,2 – 4,6] mmol/l, Ca^{2+} 2,34 [2,29 – 2,42] mmol/l) war das K^+ der T-Allel-Träger signifikant höher als das von Genotyp CC (4,5 [4,2 – 4,7] mmol/l (CT) bzw. 4,4 [4,2 – 4,6] mmol/l (TT) vs. 4,3 [4,2 – 4,5] mmol/l (CC)).

Für das Lipidprofil und die NEFA zeigte sich Folgendes: Beim Cholesterin (Median: Gesamtcholesterin 169 [151 – 190] mg/dl, HDL-Cholesterin 56 [47 – 67] mg/dl, LDL-Cholesterin 98 [86 – 115] mg/dl) waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen eruiert. Die Triglyceride bei TN waren im Median 73 [54 – 100] mg/dl. Die Triglyceride nach KE waren 81 [64 – 109] mg/dl. Es gab eine signifikante Zunahme um 8 mg/dl (13,5 %). Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen. Die NEFA bei TN lagen insgesamt bei 269 [205 – 350] µmol/l. Die NEFA nach KE lagen bei 470 [357 – 655] µmol/l. Es zeigte sich eine signifikante Zunahme der NEFA nach KE um 201 µmol/l (76,0 %). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Das CRP sensitiv lag bei TN bei 0,07 [0,03 – 0,18] mg/dl. Nach KE lag es auch bei 0,07 [0,03 – 0,19] mg/dl.

Bei den Schilddrüsenhormonen zeigte sich dies: Das basale TSH betrug im Median 1,61 [1,15 – 2,05] mU/l. Es waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen feststellbar. Das freie T₃ lag bei TN bei 3,30 [3,04 – 3,52] pg/ml. Nach KE lag es bei 3,24 [2,97 – 3,45] pg/ml. Es fiel insgesamt signifikant um 0,06 pg/ml (– 2,6 %) ab. Die Abnahme war aber nicht signifikant für den Genotyp TT ($p = 0,454$).

Das Adiponectin betrug bei TN 6,42 [4,23 – 9,56] µg/ml. Nach KE betrug es 6,60 [4,39 – 10,03] µg/ml. Es stieg insgesamt signifikant um 0,18 µg/ml (8,1 %) an. Der Anstieg für den Genotyp TT war dabei nicht signifikant ($p = 0,210$). Das Leptin lag bei TN bei 5,02 [2,35 – 12,36] ng/ml. Es lag nach KE bei 3,59 [1,80 – 7,18] ng/ml. Es sank somit signifikant um 1,43 ng/ml (– 23,9 %). Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Tab. 12: Laborwerte

Parameter	GNB3 C825T-Polymorphismus				p-Wert
	Gesamt (n=156)	CC (n=73)	CT (n=66)	TT (n=17)	
	Median [IQR]				
Nüchternblutzucker (mg/dl)					
TN	92 [86–97]	91 [86–96]	93 [86–98]	91 [87–97]	0,647
KE	85 [79–92]	85 [81–92]	85 [79–92]	87 [76–94]	0,918
Δ (%) ¹	-5,8 [-11,8 bis 0,0]	-6,0 [-11,5 bis 0,0]	-5,7 [-11,2 bis -2,1]	-7,3 [-13,8 bis 0,0] ²	0,829
Insulin (μIU/ml)					
TN	5,56 [3,18–9,45]	6,07 [3,53–9,49]	4,83 [3,02–8,11]	6,60 [3,49–10,42]	0,257
KE	5,89 [3,29–8,73]	6,20 [3,34–8,71]	4,95 [3,09–7,78]	7,46 [4,45–13,31]	0,177
Δ (%) ¹	0,9 [-14,1 bis 19,2] ²	1,6 [-17,5 bis 13,3] ²	0,7 [-13,6 bis 23,9] ²	0,0 [-6,1 bis 34,4] ²	0,498
AST (U/l)	18 [14–22]	18 [14–22]	17 [14–21]	20 [16–25]	0,210
ALT (U/l)	22 [16–29]	21 [16–26]	22 [17–29]	26 [18–38]	0,229
γ-GT (U/l)	13 [9–17]	14 [8–17]	13 [9–17]	13 [10–22]	0,753
Na ⁺ (mmol/l)	141 [140–142]	141 [139–142]	141 [139–141]	141 [140–142]	0,146
K ⁺ (mmol/l)	4,4 [4,2–4,6]	4,3 [4,2–4,5]	4,5 [4,2–4,7]	4,4 [4,2–4,6]	0,041
Ca ²⁺ (mmol/l)	2,34 [2,29–2,42]	2,36 [2,30–2,41]	2,34 [2,28–2,42]	2,31 [2,28–2,44]	0,930
Cholesterin (mg/dl)	169 [151–190]	169 [156–189]	169 [149–189]	166 [145–193]	0,886
Triglyceride (mg/dl)					
TN	73 [54–100]	71 [59–111]	78 [54–97]	65 [44–77]	0,398
KE	81 [64–109]	80 [64–119]	90 [64–109]	73 [57–90]	0,285
Δ (%) ¹	13,5 [2,0–27,8]	12,9 [0,4–21,9]	15,0 [4,4–29,6]	10,7 [0,4–26,6]	0,386
NEFA (μmol/l)					
TN	269 [205–350]	280 [230–380]	238 [190–320]	270 [203–320]	0,077
KE	470 [357–655]	520 [390–680]	438 [331–600]	455 [328–665]	0,320
Δ (%) ¹	76,0 [36,6–125,7]	75,7 [14,8–125,7]	68,0 [40,7–122,2]	104,7 [37,9–154,1]	0,679
HDL-Cholesterin (mg/dl)	56 [47–67]	55 [46–65]	54 [47–63]	62 [54–69]	0,205
LDL-Cholesterin (mg/dl)	98 [86–115]	98 [87–114]	97 [84–120]	97 [73–111]	0,733
CRP sensitiv (mg/dl)					
TN	0,07 [0,03–0,18]	0,06 [0,03–0,17]	0,09 [0,03–0,18]	0,07 [0,03–0,13]	0,913
KE	0,07 [0,03–0,19]	0,06 [0,04–0,19]	0,10 [0,03–0,19]	0,08 [0,03–0,14]	0,884
Δ (%) ¹	0,0 [0,0–11,1]	0,0 [0,0–10,9]	0,0 [0,0–11,1]	0,0 [0,0–11,7] ²	0,495
TSH basal (mU/l)	1,61 [1,51–2,05]	1,66 [1,14–2,05]	1,52 [1,12–1,90]	1,64 [1,23–2,17]	0,521
Freies T ₃ (pg/ml)					
TN	3,30 [3,04–3,52]	3,28 [2,97–3,48]	3,37 [3,09–3,53]	3,31 [3,02–3,69]	0,523
KE	3,24 [2,97–3,45]	3,19 [2,88–3,43]	3,29 [3,04–3,47]	3,23 [2,99–3,59]	0,377
Δ (%) ¹	-2,6 [-5,6 bis 0,9]	-2,4 [-6,4 bis 0,9]	-2,7 [-5,2 bis 0,3]	-2,2 [-5,1 bis 2,1] ²	0,825
Adiponektin (μg/ml)					
TN	6,42 [4,2–9,6]	6,43 [4,42–9,48]	5,73 [3,90–9,22]	7,13 [5,17–10,74]	0,419
KE	6,60 [4,4–10,0]	6,89 [4,92–10,11]	5,91 [4,33–9,60]	7,27 [4,53–13,58]	0,530
Δ (%) ¹	8,1 [-2,4 bis 16,6]	8,9 [-2,4 bis 14,5]	6,4 [-1,3 bis 16,8]	15,8 [-4,1 bis 19,0] ²	0,914
Leptin (ng/ml)					
TN	5,02 [2,4–12,4]	5,61 [2,67–16,11]	4,90 [2,43–10,74]	2,88 [1,64–8,03]	0,217
KE	3,59 [1,8–7,2]	4,20 [2,26–8,96]	3,53 [1,80–6,53]	2,10 [1,30–4,76]	0,083
Δ (%) ¹	-23,9 [-31,6 bis -13,5]	-23,8 [-31,6 bis -12,9]	-24,4 [-32,3 bis -14,2]	-23,3 [-29,9 bis -17,2]	0,815

¹ Alle Differenzen nach KE waren $p < 0,05$, wenn nicht anders angegeben.

² Differenz nach KE war *n.s.*

Abkürzungen: ALT=Alanin-Aminotransferase, AST=Aspartat-Aminotransferase, Ca²⁺=Kalzium, CRP=C-reaktives Protein, Δ=Differenz nach Kälteexposition, γ-GT=γ-Glutamyl-Transferase, K⁺=Kalium, KE=Kälteexposition, Na⁺=Natrium, NEFA=non-esterified fatty acids, T₃=Triiodthyronin, TN=Thermonutralität, TSH=Thyreoida-stimulierendes Hormon

4.10 Assoziationen zur kälteinduzierten Thermogenese

Da nicht nur der Effekt von KE auf verschiedene Parameter je nach Genotyp untersucht werden sollte, sondern auch die Assoziation mehrerer unabhängiger Variablen mit der KIT, wurden einfache und multiple lineare Regressionen mit der KIT als abhängigen Variablen durchgeführt. Die Ergebnisse der Regressionsanalyse für alle Genotypen zusammen (keine Moderationsanalyse) sind in Tab. 13 zu sehen.

Der BMI war signifikant negativ mit der KIT assoziiert, das Bestimmtheitsmaß war jedoch sehr klein ($p = 0,023$, $R^2 = 0,033$). Ein Moderatoreffekt durch den Genotyp war nicht gegeben ($p = 0,445$). **Abb. 28** zeigt das zugehörige Streudiagramm mit eingezeichneter Regressionsgerade.

Wir konnten keine signifikante Assoziation der supraclavikulären Temperaturdifferenz mit der KIT ermitteln ($p = 0,811$, $R^2 = 0,000$).

Die Toleranztemperatur war signifikant negativ mit der KIT assoziiert ($p < 0,001$, $R^2 = 0,107$). Ein Moderatoreffekt durch den Genotyp lag nicht vor ($p = 0,359$). Veranschaulicht ist die Assoziation der KIT mit der Toleranztemperatur in **Abb. 29**.

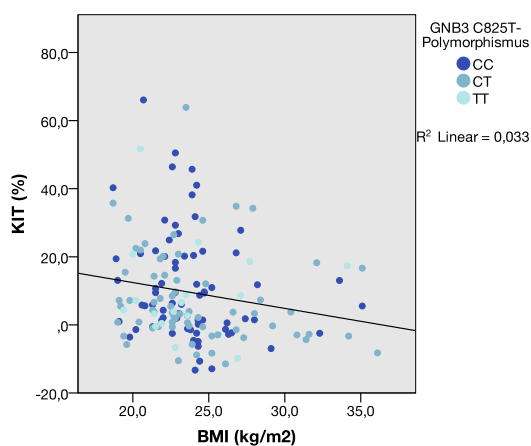


Abb. 28: Assoziation KIT und BMI

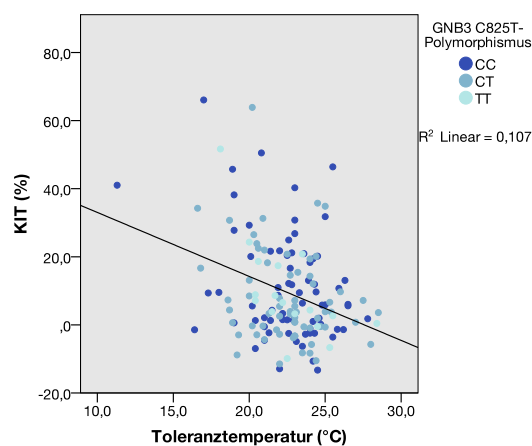


Abb. 29: Assoziation KIT und Toleranztemperatur

Die Außentemperatur war ebenfalls signifikant negativ mit der KIT assoziiert, wobei das Bestimmtheitsmaß wiederum sehr klein war ($p = 0,027$, $R^2 = 0,031$). Der Genotyp war dabei kein signifikanter Moderator ($p = 0,347$).

Eine signifikante Assoziation der Differenz des Nüchternblutzuckers mit der KIT bestand nicht ($p = 0,925$, $R^2 = 0,000$).

Dagegen zeigte sich eine signifikante positive Assoziation der Differenz der Triglyceride mit der KIT, jedoch mit kleinem Bestimmtheitsmaß ($p = 0,031$, $R^2 = 0,030$). Auch die Differenz der NEFA war signifikant positiv mit der KIT

assoziiert ($p = 0,011$, $R^2 = 0,042$). Dabei lag kein Moderatoreffekt durch den Genotyp vor ($p_{Triglyceride} = 0,276$ bzw. $p_{NEFA} = 0,286$).

Nach Durchführung einer multiplen linearen Regression mit allen oben genannten Variablen (BMI, supraklavikuläre Temperaturdifferenz, Toleranztemperatur, Außentemperatur, Differenz des Nüchternblutzuckers, der Triglyceride sowie der NEFA) waren lediglich noch BMI und Toleranztemperatur signifikante Einflüsse in dem Modell ($p_{BMI} = 0,006$, $p_{Toleranztempertur} < 0,001$). Das korrigierte R^2 erreichte einen Wert von 0,152. Es gab keinen Moderatoreffekt durch den Genotyp ($p = 0,349$).

Tab. 13: Lineare Regressionen mit KIT als abhängiger Variable

Unabhängige Variablen	Einfache lineare Regression der KIT (%)				
	Regressionskoeffizient	Standardfehler	t-Statistik	R ²	p-Wert
BMI (kg/m ²)	-0,76	0,33	-2,30	0,033	0,023
Supraklavikuläre Temperaturdifferenz (%)	-0,18	0,74	-0,24	0,000	0,811
Toleranztemperatur (°C)	-1,88	0,44	-4,29	0,107	<0,001
Außentemperatur (°C)	-0,41	0,19	-2,24	0,031	0,027
Differenz des Nüchternblutzuckers (%)	-0,01	0,15	-0,10	0,000	0,925
Differenz der Triglyceride (%)	0,13	0,06	2,17	0,030	0,031
Differenz der NEFA (%)	0,03	0,01	2,57	0,042	0,011

Unabhängige Variablen	Multiple lineare Regression der KIT (%)				
	Regressionskoeffizient	Standardfehler	t-Statistik	Korrigiertes R ²	p-Wert
BMI (kg/m ²)	-0,96	0,34	-2,77		0,006
Supraklavikuläre Temperaturdifferenz (%)	0,58	0,72	0,80		0,426
Toleranztemperatur (°C)	-2,01	0,49	-4,13		<0,001
Außentemperatur (°C)	-0,26	0,18	-1,45		0,151
Differenz des Nüchternblutzuckers (%)	0,01	0,14	0,04		0,968
Differenz der Triglyceride (%)	0,03	0,06	0,55		0,584
Differenz der NEFA (%)	0,01	0,01	0,63		0,528
Insgesamt				0,152	<0,001

Abkürzungen: BMI=Body-Mass-Index, KIT=kälteinduzierte Thermogenese, NEFA=non-esterified fatty acids

4.11 Zusammenfassung der Ergebnisse

Zusammenfassend lassen sich folgende Punkte feststellen:

- Bei den Baseline-Charakteristika, insbesondere in Bezug auf den BMI, gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.
- 46,8 % ($n = 73$) der 156 Proband:innen hatten den Genotyp CC, 42,3 % ($n = 66$) den Genotyp CT und 10,9 % ($n = 17$) den Genotyp TT.
- Die Energie- und Makronährstoffaufnahme zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

- In Bezug auf Zyklushälfte, Schlafdauer, Sport im Winter und im Sommer sowie Schulabschluss gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.
- Der systolische RR von Genotyp TT bei TN war höher als der von Genotyp CC/CT, jedoch nicht signifikant. Der systolische RR von Genotyp TT nach KE war ebenfalls höher als der von Genotyp CC/CT, jedoch wiederum nicht signifikant. Systolischer und diastolischer RR stiegen insgesamt signifikant nach KE an, der systolische RR von Genotyp TT stieg dabei aber nicht an.
- Die HF sank signifikant nach KE.
- Genotyp CT wies eine signifikant niedrigere mittlere Körperoberflächentemperatur und Brusttemperatur bei TN auf als Genotyp CC/TT. Auch die mittlere Brusttemperatur bei TN war bei Genotyp CT signifikant niedriger als bei Genotyp CC/TT. Kerntemperatur, Oberflächentemperatur und Brusttemperatur sanken jeweils signifikant nach KE. Die supraklavikuläre Temperatur zeigte hingegen keine signifikante Abnahme.
- Hinsichtlich Toleranztemperatur gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.
- Der GU stieg nach KE signifikant an. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.
- Der RQ nahm nach KE signifikant ab. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.
- Bei vielen Laborwerten (Nüchternblutzucker, Triglyceride, NEFA, CRP sensitiv, freies T₃, Adiponectin, Leptin) zeigte sich eine signifikante Dynamik. Es gab dabei keine wesentlichen signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen. Das K⁺ (nur Wert bei TN) der T-Allel-Träger war signifikant höher als das von Genotyp CC.
- BMI, Toleranztemperatur, Außentemperatur, Differenz der Triglyceride und Differenz der NEFA waren signifikant mit der KIT in einer einfachen linearen Regression assoziiert. Nach Durchführung einer

multiplen linearen Regression waren nur noch BMI und Toleranztemperatur signifikante Prädiktoren des Modells.

5. Diskussion

In den folgenden Kapiteln werden die Hauptergebnisse der Studie diskutiert und mit der bereits vorhandenen Literatur verglichen. Zudem werden die Stärken und Schwächen der Studie erörtert sowie jeweils eine abschließende Zusammenfassung und ein Ausblick gegeben.

5.1 Verteilung der Genotypen

In unserem Studienkollektiv hatten 46,8 % der 156 Proband:innen den Genotyp CC, 42,3 % den Genotyp CT und 10,9 % den Genotyp TT. Der Anteil an T-Allel-Träger:innen (TT + CT) belief sich somit auf 53,2 % und die Frequenz des 825T-Allels auf 32,1 %. Vergleicht man diese Werte mit denen von Siffert et al. (1999), so unterscheiden sie sich nicht wesentlich: Dort hatten 48,4 % der 1855 genotypisierten Deutschen den Genotyp CC, 42,9 % den Genotyp CT und 8,7 % den Genotyp TT. Der Anteil an T-Allel-Träger:innen war 51,6 % und die Frequenz des 825T-Allels 30,2 %. Da es sich dabei um eine breit angelegte epidemiologische Studie handelte, liegt der wahre Wert natürlich viel näher bei Siffert et al. (1999) als bei der hier vorliegenden Studie. Nichtsdestotrotz scheint unsere Verteilung der Genotypen repräsentativ für die deutsche Bevölkerung zu sein.

5.2 Das 825T-Allel und BMI

In unserer Auswertung zeigte sich kein signifikant höherer BMI bei T-Allel-Träger:innen verglichen mit dem CC-Genotyp.

Auch andere Studien beschrieben keine Assoziation des 825T-Allels zum BMI: So konnten Hinney et al. (2001) keine Assoziation des T-Allels zu Übergewicht und Adipositas bei Kaukasier:innen aus Europa finden. Benjafield et al. (2001), Hsiao et al. (2013), Ohshiro et al. (2001) und Rankinen et al. (2002) konnten bei Afroamerikaner:innen, Australier:innen, Japaner:innen und Taiwaner:innen keinen Zusammenhang aufdecken. Auch eine große Metaanalyse von Pereira et

al. (2014) mit vor allem asiatischen Studienteilnehmenden konnte keinen signifikanten Effekt des GNB3 C825T-Polymorphismus auf den BMI feststellen.

Verschiedene, bereits eingangs erwähnte Studien beschrieben im Gegensatz dazu eine *vorhandene* Assoziation des 825T-Allels zu einem höheren BMI bzw. geringeren Gewichtsverlust. Dazu zählen beispielsweise Hauner et al. (2003), Li et al. (2016) und Siffert et al. (1999).

Grundsätzlich ist das GNB3-Gen ein passender Kandidat, der zur Pathogenese von Übergewicht und Adipositas beitragen könnte: Ein möglicher Grund dafür ist, dass Adipozyten von Testpersonen mit dem T-Allel eine geringere Lipolyse nach Noradrenalin-Stimulation aufweisen als solche mit dem Genotyp CC (Hauner et al. 2002). Dies wurde auch von Rydén et al. (2002) gezeigt. Der Fettabbau findet in diesen Zellen bei T-Allel-Träger:innen also in abgeschwächter Form statt.

Bei der hier vorliegenden Studie war ein möglicher Effekt des GNB3 C825T-Polymorphismus auf den BMI maskiert durch einen großen Selektionsbias. So bestand unser Studienkollektiv aus überwiegend jungen, gesunden Proband:innen. Die Häufigkeit der Übergewichtigen lag lediglich bei 17,3 %, die der Adipösen nur bei 7,7 %. Zum Vergleich: Unter den 18- bis 79-Jährigen in Deutschland sind 67,1 % der Männer und 53,0 % der Frauen übergewichtig; die Adipositasprävalenz beträgt 23,3 % bei Männern und 23,9 % bei Frauen (Kurth 2012). Hinzu kommt, dass wir letztlich zu wenige TT-Genotypen hatten, um einen möglichen Effekt des SNPs auf den BMI zu verifizieren. Dies war allerdings auch nicht das primäre Ziel unserer Studie.

Abschließend lässt sich sagen: Die Entstehung von Übergewicht und Adipositas ist ein multifaktorielles Geschehen. Sowohl Umwelt- als auch genetische Faktoren spielen eine Rolle bei der Pathogenese (Wabitsch et al. 2014). Im Hinblick auf die Genetik gibt es zahlreiche Assoziationen zwischen Genpolymorphismen und Gewichtszunahme (s. **Abb. 30**), deren klinische Relevanz aber fraglich und umstritten ist. Besonders hervorzuheben ist dabei

das FTO-Gen, das die stärkste Assoziation zum BMI aufweist (Day und Loos 2011). Seine Bedeutung, mit Fokus auf der kälteinduzierten Thermogenese, wird in einer separaten Arbeit von Laura Mengel erörtert. Die genaue Rolle des GNB3 C825T-Polymorphismus bei der Regulation des Körpergewichts bleibt weiterhin zu erforschen.

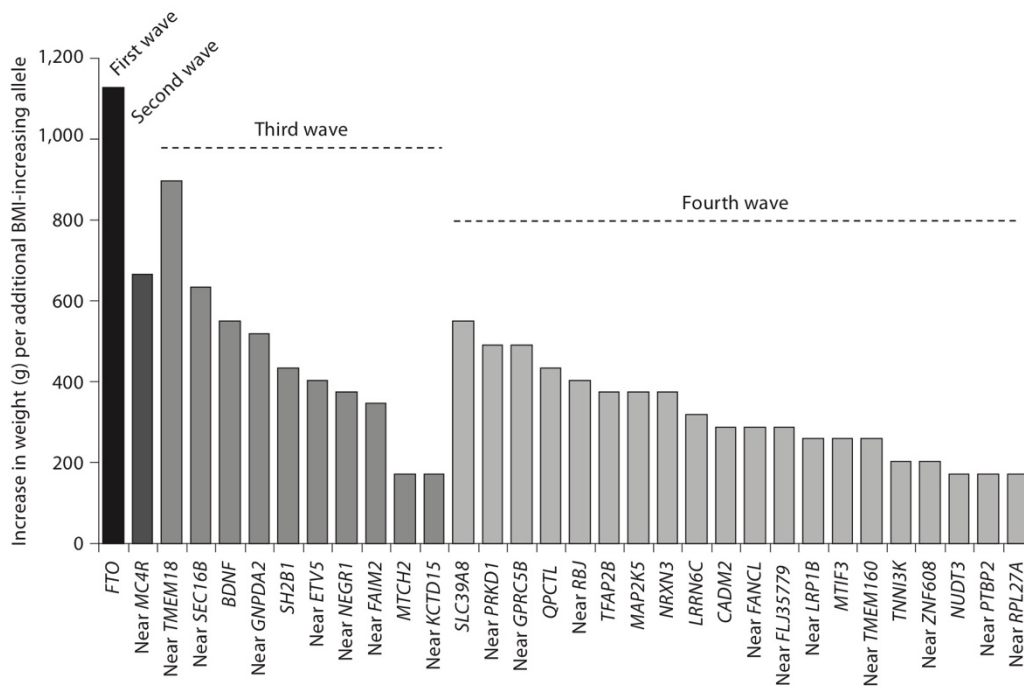


Abb. 30: Genpolymorphismen und Gewichtszunahme (Day und Loos 2011)

5.3 Das 825T-Allel und Blutdruck

Unsere Analyse zeigte einen Trend zu einem höheren systolischen RR bei Genotyp TT verglichen mit Genotyp CC/CT sowohl bei TN als auch nach KE (s. **Abb. 31**). Jedoch war der Unterschied nicht signifikant.

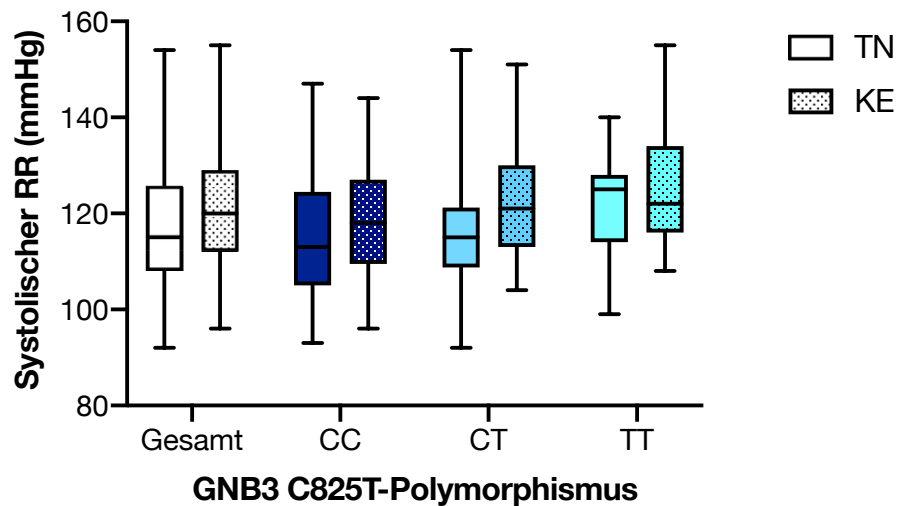


Abb. 31: Systolischer RR vor und nach KE nach Genotyp

Abkürzungen: KE=Kälteexposition, RR=Blutdruck,
TN=Thermoneutralität

Dieser Trend lag in Übereinstimmung mit der Literatur. Es sei in diesem Kontext auf eine Metaanalyse von Bagos et al. (2007) hingewiesen, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem 825T-Allel und dem systolischen RR vorwiegend bei Kaukasier:innen nachweisen konnte. Außerdem seien an dieser Stelle nochmals die zu Beginn erwähnten Studien von Rong et al. (2017) und Sousa et al. (2018) angeführt, die eine Assoziation des GNB3 C825T-Polymorphismus mit essentieller Hypertonie bei Kaukasier:innen schlussfolgerten.

Von Vorteil an unserer Studie ist, dass der Effekt auf den RR nahezu ausschließlich auf den Genotyp zurückgeführt werden kann, da ein sehr homogenes Kollektiv mit vergleichbaren Baseline-Charakteristika insbesondere in Bezug auf den BMI untersucht wurde. Nichtsdestotrotz gilt es zu betonen, dass es sich hierbei lediglich um einen Trend handelte und nicht

um eine statistisch signifikante Assoziation. Es war aber wiederum nicht primäres Ziel unserer Studie, den Effekt des GNB3 C825T-Polymorphismus auf den RR zu erfassen.

Auffällig war auch, dass nur in der Gruppe von Genotyp TT kein signifikanter RR-Anstieg nach KE festzustellen war. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Proband:innen mit Genotyp TT eine geringere sympathische Antwort nach KE aufweisen als diejenigen mit Genotyp CC/CT. Es gibt bereits Studien von Kurnik et al. (2008) und Wang et al. (2012), die einen Zusammenhang verschiedener Genpolymorphismen (u.a. GNB3) mit der kardiovaskulären Antwort nach KE feststellten. In Bezug auf den TT-Genotyp konnte dabei jedoch anders als hier eine *gesteigerte* sympathische Antwort gezeigt werden. Dass wir keinen signifikanten RR-Anstieg in der Gruppe der TT-Genotypen finden konnten, mag aber auch daran liegen, dass wir mit nur 17 TT-Träger:innen lediglich eine geringe Power erzielen konnten. Dadurch, dass wir vor allem junge, gesunde Proband:innen untersucht haben, ist außerdem ein Selektionsbias nicht unwahrscheinlich.

Schlussendlich lässt sich sagen, dass es eine signifikante Assoziation (in unserer Studie „nur“ einen Trend) des GNB3 C825T-Polymorphismus zu einem höheren Blutdruck gibt. Der zugrundeliegende Mechanismus, wie die G β 3s-Variante den RR beeinflusst, muss jedoch weiterhin erforscht werden.

5.4 Das 825T-Allel und kälteinduzierte Thermogenese

Im Fokus dieser Arbeit stand die Frage, ob und wie der GNB3 C825T-Polymorphismus die KIT beim Menschen beeinflusst. Die Tatsache, dass das 825T-Allel in mehreren Studien mit dem Auftreten von Übergewicht und Adipositas verknüpft war (z.B. Siffert et al. 1999) und dass in Adipozyten von T-Allel-Träger:innen eine geringere noradrenalinvermittelte Lipolyse stattfindet (Hauner et al. 2002), ließ die Hypothese entstehen, dass auch die zitterfreie Wärmebildung bei Individuen mit dem T-Allel schwächer ausgeprägt sein könnte als bei CC-Anlageträger:innen. Die FREECE-Studie war die erste

Studie, die den Zusammenhang zwischen dem GNB3 C825T-Polymorphismus und der KIT beim Menschen untersuchte.

Der GU bei TN lag im Median bei 1615 kcal/d. Der GU bei KE lag bei 1720 kcal/d. Die Zunahme des GU nach KE war für alle drei Gruppen signifikant und betrug insgesamt also 105 kcal/d.

Dies entspricht einer KIT von 5,5 [0,5 bis 18,3] %. Es zeigte sich somit ein starker interindividueller Unterschied in der Ausprägung der KIT (s. Abb. 32). Sowohl der GU bei TN, der GU bei KE als auch die KIT ließen keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Genotypen feststellen.

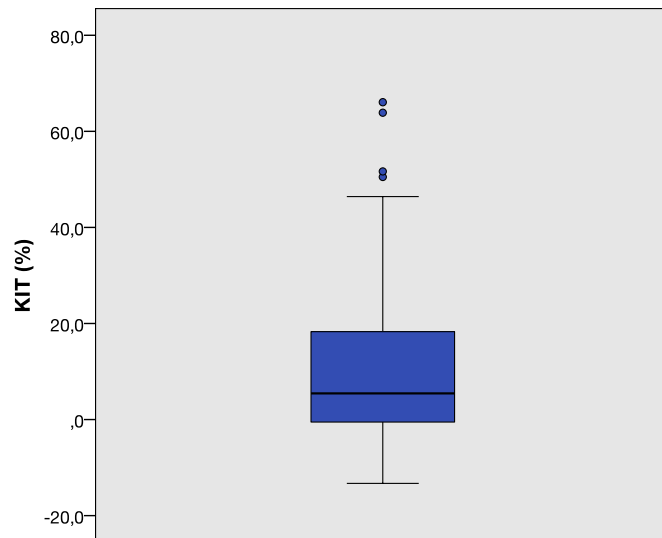


Abb. 32: KIT gesamt

Abkürzungen: KIT=kälteinduzierte Thermogenese

Wie gesagt, ermittelten wir eine KIT von 5,5 %. Van der Lans et al. (2016) berichteten von einer KIT von 10,9 %. Sie benutzten wie wir ein individualisiertes Kühlprotokoll, bei dem die Probanden über 1,5 h schrittweise abgekühlt wurden, jedoch mit Luft als Kühlmedium. Die KE-Temperatur betrug im Mittel 15,8 °C. Allerdings wurde dort auch eine Elektromyografie (EMG) durchgeführt, sodass sehr genau auf ein zumindest oberflächliches Zittern reagiert und Muskelaktivität als beitragender Faktor zur KIT weitgehend ausgeschlossen werden konnte. Mit 36 schlanken, jungen Männern als Teilnehmern war jene Studie eine der größten zur KIT beim Menschen (Brychta und Chen 2017), ist aber der unseren hinsichtlich Fallzahl – wir hatten zum Zeitpunkt der Analyse 156 Proband:innen – und Geschlechterverteilung bei uns war gut die Hälfte des Kollektivs weiblich – unterlegen. Eine Studie von Lee et al. (2014) mit zehn Männern, die auch mit wasserdurchfluteten Decken durchgeführt wurde, meldete sogar eine KIT von 16 – 50 %. Jedoch wurde bei der Studie von Lee et al. (2014) der GU bei definierten Temperaturen

(27 °C, 18 °C, 16 °C, 14 °C und 12 °C) gemessen, wobei die Probanden auch zittern „durften“. Somit wurde dort nicht nur die zitterfreie Wärmebildung erfasst. Die KE-Dauer war gleich der unseren, also auch 2 h. Wijers et al. (2011) setzten zehn schlanke Männer über 24 h einer milden Kälte (16 °C Lufttemperatur) in einer Stoffwechselkammer aus und ermittelten dadurch eine KIT von 3,5 %. Über diesen nicht-individualisierten Ansatz konnte jedoch weder die maximale zitterfreie Wärmebildung bestimmt werden noch ein Muskelzittern sicher ausgeschlossen werden.

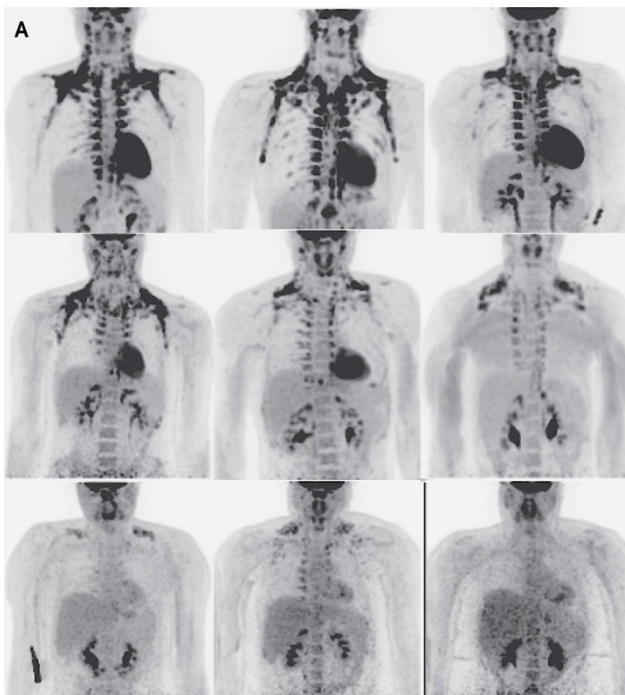


Abb. 33: Unterschiede in der Aktivität des braunen Fettgewebes: oben schlank, mittig intermediär, unten übergewichtig/adipös (van Marken Lichtenbelt et al. 2009)

Wir observierten eine starke Schwankung in der KIT. Manche Proband:innen zeigten also eine große Zunahme des GU nach KE, während andere dies nicht schafften und teilweise sogar ein negatives Delta aufwiesen. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass es interindividuelle Unterschiede im Anteil und der Aktivität des braunen Fettgewebes gibt. So zeigte sich in PET-CT-Scans mit Fluor-desoxyglucose (¹⁸F-FDG), dass bei Übergewichtigen und Adipösen das braune Fettgewebe nach KE weniger aktiv ist als bei

Schlanken (s. **Abb. 33**; van Marken Lichtenbelt et al. 2009). Auch in unserer Studie war die KIT negativ mit dem BMI assoziiert. Dieser Zusammenhang wurde zunächst mit einer einfachen linearen Regression untersucht und war signifikant, jedoch konnte sie nur einen geringen Anteil der Varianz erklären. Nicht zuletzt, weil wir so wenige übergewichtige und adipöse Probanden hatten, ist dieses Modell kein gutes Abbild der Realität. Durch eine multiple

lineare Regression, in die u.a. noch die Toleranztemperatur miteingeschlossen wurde, konnten 15,2 % der Varianz der Assoziation erklärt werden, wobei der BMI weiterhin ein signifikanter Einfluss auf das Modell blieb. Damit wird die Wirklichkeit besser abgebildet und es zeigt sich, dass die KIT signifikant negativ mit dem BMI assoziiert ist.

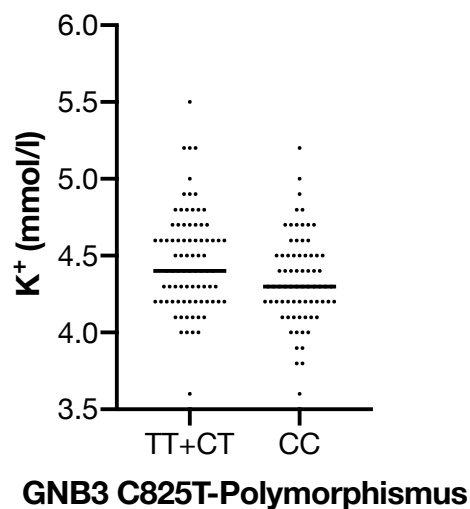
Sowohl der GU bei TN, der GU bei KE als auch die KIT ließen keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Genotypen feststellen. Dies legt nahe, dass das T-Allel keine weitere Bedeutung für die KIT hat. Eine große Stärke unserer Studie ist, dass andere Einflussfaktoren (z.B. BMI und Toleranztemperatur) weitgehend ausgeschlossen werden konnten, da unser Studienkollektiv sehr homogen war und einer jeweils ähnlichen Temperatur ausgesetzt wurde. Auch wenn die Teilnehmendenzahl für eine Interventionsstudie dieser Art sehr hoch war, ist sie absolut gesehen niedrig, insbesondere die der TT-Genotypen. Das ist ein legitimer Kritikpunkt an unserer Methodik.

Unsere Daten lassen zusammenfassend den klaren Schluss zu, dass der GNB3 C825T-Polymorphismus keinen Einfluss auf die KIT bei jungen, gesunden Proband:innen hat – weder auf die Höhe des GU bei TN noch auf die Höhe des GU bei KE noch auf die Höhe des Deltas. Ob es bei einem älteren Kollektiv mit höherem Durchschnitts-BMI anders aussehen würde, kann man anhand unserer Analysen jedoch nicht sagen. Diesbezüglich ist weitere Forschung nötig.

5.5 Das 825T-Allel und Kalium

Das Serum-K⁺ der T-Allel-Träger:innen war bei unserer Auswertung signifikant höher als das von Genotyp CC (s. Abb. 34).

Die Unterschiede von knapp 0,1 mmol/l mögen auf den ersten Blick eher geringfügig erscheinen, sind jedoch schon klinisch relevant, denn der Kaliumhaushalt ist sehr streng reguliert. Dazu tragen u.a. die Hormone Insulin und Aldosteron bei. Bereits eine Erhöhung der K⁺-Konzentration von 0,1 mmol/l kann die Aldosteron-Ausschüttung stimulieren. (Rassow et al. 2012, S. 621 f.)



GNB3 C825T-Polymorphismus
Abb. 34: K⁺ der T-Allel-Träger
verglichen mit Genotyp CC

Abkürzungen: K⁺=Kalium

Verschiedene Studien zeigten einen Zusammenhang des GNB3 C825T-Polymorphismus mit dem Serum-K⁺ auf. So war bei einer Studie an einer älteren japanischen Population das Serum-K⁺ der T-Allel-Träger:innen wie bei uns signifikant höher als das der CC-Genotypen (Ishikawa et al. 2000). Andere Studien, z.B. von Martin et al. (2005) oder Nejatizadeh et al. (2011), hingegen berichteten von einer *geringeren* extrazellulären K⁺-Konzentration bei Patient:innen mit dem 825T-Allel. In wiederum anderen Untersuchungen, z.B. von Dong et al. (1999), konnte kein signifikanter Unterschied im K⁺ der jeweiligen Genotypen eruiert werden.

Wir können schlussendlich nicht abstreiten, dass es sich bei unserem Fund nur um eine rein zufällige statistische Signifikanz handelt. Insbesondere, dass wir keine Unterschiede bei den übrigen Elektrolyten (Na⁺ und Ca²⁺) ausmachen konnten und dass das K⁺ der CT-Gruppe, nicht das K⁺ der TT-Gruppe, im Median am höchsten lag, spricht hierfür. Umgekehrt können wir aber genauso wenig ausschließen, dass GNB3 eine zentrale Rolle im transmembranären

Ionen-transport, etwa über den Na⁺/H⁺-Antiporter (Ishikawa et al. 2000), spielt. Es bedarf noch weiterer Forschung in diesem Zusammenhang, auch im Hinblick auf die Regulation durch Insulin und Aldosteron.

5.6 Ernährungsprotokoll und Anamnesebogen

Wie zu erwarten, gab es keine signifikanten Unterschiede bei der Energie- und Makronährstoffaufnahme. Diese Feststellung ist nicht etwa deshalb interessant, weil wir davon ausgingen, dass Unterschiede im Essverhalten genetisch determiniert sind, sondern insbesondere deshalb, weil dadurch Ernährung als Störfaktor weitgehend ausgeschlossen werden konnte.

Ebenso zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich Zyklushälfte, Schlafdauer, sportlicher Betätigung und Schulabschluss. Somit konnten auch diese Faktoren als potenzielle Störvariablen ausgeschlossen werden.

5.7 Abfall der Herzfrequenz

In unserer Studie sank die HF nach KE signifikant ab. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Ein Abfall der HF wurde auch in anderen Studien mit KE beschrieben. Dazu zählen beispielsweise diejenigen von Hanssen et al. (2016) und Vosselman et al. (2012).

Es stellt sich die Frage, warum die Herzfrequenz trotz (oder gerade *wegen*) KE fällt. Liegt es daran, dass die Proband:innen zwei Stunden lang liegen mussten und dadurch die Parasympathikus-Aktivierung („rest and digest“) die sympathische Kälteantwort („flight or fight“) überwog (Behrends et al. 2012, S. 56 f.)? Führt man sich vor Augen, dass der systolische RR jedoch im Sinne einer *gesteigerten* sympathischen Reaktion nach KE anstieg, so wird dieser Erklärungsversuch unwahrscheinlich.

Eine Studie an Hunden von Nishikawa und Namiki (1988) aus den 80er-Jahren könnte den tatsächlichen Grund liefern: Durch transpulmonale

Thermodilution mit Verabreichung von gekühlter Kochsalzlösung ein Verfahren, das beim erweiterten hämodynamischen Monitoring von Intensivpatienten Anwendung findet kam es bei den Hunden zu einer Verlangsamung der HF. Zugleich wurde die Temperatur in der Region des Sinusknotens gemessen, deren Änderung mit der Änderung der HF korreliert war. Da sich auch nach autonomer Blockade an dem Absinken der HF nichts änderte, kamen die Forscher zu dem Schluss, dass die direkte Kälteeinwirkung auf den Sinusknoten für die negativ chronotrope Wirkung von Kälte verantwortlich ist und nicht das vegetative Nervensystem. Selbstverständlich ist diese Studie nicht 1:1 auf den Menschen übertragbar. Die Körperkerntemperatur fiel allerdings auch bei uns im Median um 0,5 °C ab, weshalb davon auszugehen ist, dass der Sinusknoten abgekühlt wurde und somit der Abfall der HF erklärt werden könnte.

Das Konzept des Baroreflexes liefert einen weiteren Erklärungsansatz: Bei einem Blutdruckanstieg wie es bei KE der Fall ist werden Presso- und Volumenrezeptoren erregt, die daraufhin über den N. glossopharyngeus (IX) und den N. vagus (X) reflektorisch den Parasympathikus aktivieren. Dadurch sinkt die Herzfrequenz. (Behrends et al. 2012, S. 143 f.)

Da sich beim Abfall der HF keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen zeigten, ist ein Einfluss des 825T-Allels auf dieses Phänomen sei es durch direkte Kühlung des Sinusknotens, den Baroreflex oder einen noch unbekanntem Mechanismus unwahrscheinlich.

5.8 Temperaturmessungen

Genotyp CT wies die signifikant niedrigsten Körperoberflächentemperaturen bei TN (Gesamt- und Brusttemperatur) auf. Die Differenzen zwischen den Genotypen waren allerdings mit Werten von maximal 0,3 °C nur sehr gering. Auch die *p*-Werte waren nur knapp unterhalb des Signifikanzniveaus. Wir gehen davon aus, dass es sich dabei am ehesten um zufällige Signifikanzen handelte. Dafür spricht, dass nach KE keine signifikanten Unterschiede mehr

in der Körperoberflächentemperatur gemessen werden konnten und dass nicht die TT-Genotypen, sondern eben die CT-Genotypen das Extrem markierten. Auch die große Menge an analysierten Daten darf in diesem Zusammenhang nicht unberücksichtigt bleiben.

Vergleicht man den Abfall der Körperoberflächentemperatur mit demjenigen der Körperkerntemperatur, so stellt man fest, dass ersterer wesentlich stärker war als letzterer. Dies liegt im Wesentlichen daran, dass, wie eingangs erwähnt, bei Kältebelastung die Hautdurchblutung gedrosselt wird. Die Körperkerntemperatur soll dagegen konstant gehalten werden. (Behrends et al. 2012, S. 524)

Auffällig war, dass die supraklavikuläre Temperatur nicht signifikant abfiel. Eine passende Erklärung dafür ist, dass sich dort beim erwachsenen Menschen der „Löwenanteil“ des braunen Fettgewebes befindet. Die supraklavikuläre Temperatur bei KE könnte somit ein Maß für die Aktivität des braunen Fettgewebes beim Menschen sein, was insbesondere deshalb wünschenswert wäre, weil der bisherige Goldstandard, die Messung der ^{18}F -FDG-Aufnahme des braunen Fettgewebes, limitiert ist durch hohe Kosten und Strahlenbelastung (Boon et al. 2014). Leider lassen neuere Studien diesen Schluss nicht oder zumindest nur bedingt zu. So war in einer Untersuchung von Martinez-Tellez et al. (2019) die supraklavikuläre Temperatur nicht mit der ^{18}F -FDG-Aufnahme nach KE assoziiert. In einer weiteren Untersuchung, ebenfalls von Martinez-Tellez et al. (2019), dagegen stellte sich heraus, dass die supraklavikuläre Temperatur nur bei Frauen mit der ^{18}F -FDG-Aufnahme in Zusammenhang steht, wobei nur ein geringer Anteil der Varianz dieser Assoziation erklärt werden konnte. Auch in unserer linearen Regression war die supraklavikuläre Temperaturdifferenz nicht mit der KIT assoziiert, sodass auch wir uns zu dem Schluss verleitet sehen, dass die supraklavikuläre Temperatur nicht oder zumindest nicht ausschließlich durch die Aktivität von braunem Fettgewebe erklärt werden kann.

Alles in allem lässt sich sagen: Es gibt keinen wesentlichen Unterschied in der kältebezogenen Temperaturregulation je nach Ausprägung des GNB3 C825T-Polymorphismus.

5.9 Individualisiertes Kühlprotokoll und Toleranztemperatur

Anhand unseres individualisierten Kühlprotokolls wurden die Proband:innen schrittweise zwischen zwei wasserdurchfluteten Decken abgekühlt, bis sie ihre persönliche Zitterschwelle erreichten. Anschließend wurde die Temperatur wieder um 2 °C erhöht und bei dieser Toleranztemperatur wurden sie für zwei Stunden kälteexponiert. Die mediane Toleranztemperatur betrug 22,8 °C, wobei sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen zeigten. Die Toleranztemperatur war signifikant negativ mit der KIT assoziiert.

Das personalisierte Kühlprotokoll kann als große Stärke unserer Studie angesehen werden, da wir sehr genau auf die interindividuellen Unterschiede in Bezug auf die maximale zitterfreie Wärmebildung eingehen konnten. Allerdings mussten wir uns auf sichtbares Zittern bzw. auf die subjektiven Aussagen der Proband:innen („Ich beginne zu zittern.“ oder: „Mir läuft ein Schauer über den Rücken.“) verlassen, denn wir verzichteten auf eine objektive, invasive Darstellung der Muskelaktivität mittels EMG.

Bezüglich der Höhe der Toleranztemperatur gab es, wie gesagt, keine Unterschiede je nach Genotyp. Am ehesten liegt das daran, dass auch keine Unterschiede im Geschlecht, BMI und der Fettmasse auszumachen waren.

Die Toleranztemperatur war signifikant negativ mit der KIT assoziiert, d.h. je höher die Toleranztemperatur, desto niedriger die KIT. Mit einer einfachen linearen Regression konnten 10,7 % der Varianz dieser Assoziation erklärt werden. Nach Durchführung einer multiplen linearen Regression mit Einschluss von BMI, supraklavikulärer Temperaturdifferenz, Toleranz- und Außentemperatur sowie Differenz des Nüchternblutzuckers, der Triglyceride und NEFA waren lediglich noch BMI und Toleranztemperatur signifikante

Prädiktoren in dem Modell. 15,2 % der Varianz der Assoziation konnten mit dem Modell erklärt werden.

5.10 Abfall des respiratorischen Quotienten

Unsere Auswertung zeigte, dass der RQ nach KE signifikant sank. Dabei gab es keine Unterschiede zwischen den Genotypen.

Dies bedeutet einerseits, dass vermehrt auf Fette als Energielieferanten zurückgegriffen wurde und weniger auf Kohlenhydrate und Proteine (Behrends et al. 2012, S. 515). Bereits von Cannon und Nedergaard (2004) wurde anhand von Experimenten an Nagetieren postuliert, dass Fettsäuren die bevorzugten Substrate des braunen Fetts sind (s. Kap. 1.3.4.7). Neuere Studien an Menschen, u.a. von Blondin et al. (2017) und Fedorenko et al. (2012), konnten diesen Sachverhalt ebenso bestätigen. Dazu passt auch, dass sowohl die Triglyceride als auch die NEFA in der hier vorliegenden Studie signifikant nach KE anstiegen, was eine vermehrte Mobilisierung von Fetten nahelegt (s. Kap. 5.11).

Andererseits bekräftigen die nicht vorhandenen Unterschiede zwischen den Genotypen unsere These, dass der GNB3 C825T-Polymorphismus keine Bedeutung für die thermogenetische Antwort auf moderate Kälte hat.

5.11 Metabolische und hormonelle Veränderungen nach Kälteexposition

Wir fanden eine signifikante Dynamik beim Nüchternblutzucker, den Triglyceriden und NEFA, dem CRP, dem freien T_3 sowie beim Adiponectin und Leptin. Dabei gab es keine wesentlichen signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen.

Der Nüchternblutzucker sank insgesamt signifikant nach KE ab. Wie eingangs erwähnt, wird wahrscheinlich über eine noradrenalinvermittelte Erhöhung der Expression und Aktivität der GLUT₁-Transporter bei Kälte die Glucoseaufnahme im braunen Fett erhöht, wodurch der Blutzuckerspiegel

sinkt (Cannon und Nedergaard 2004). Wir konnten allerdings nicht zeigen, dass die Änderung des Nüchternblutzuckers mit der Höhe der KIT in einem Zusammenhang steht.

Die Triglyceride und NEFA stiegen signifikant an nach KE. Andere Studien, etwa von Iwen et al. (2017) und Weir et al. (2018) konnten ebenfalls eine Zunahme von Triglyceriden und NEFA im Blut durch KE zeigen. Der Grund für diesen Anstieg ist eine vermehrte Mobilisierung von Fetten aus dem weißen Fettgewebe, um dadurch Fettsäuren als Substrate für das braune Fettgewebe bereitzustellen (Heine et al. 2018). In einfachen linearen Regressionen konnte anhand unserer Daten ein signifikanter positiver Zusammenhang der Differenz der Triglyceride und NEFA mit der KIT nachgewiesen werden. Jedoch konnte jeweils nur ein kleiner Anteil der Varianz der KIT damit erklärt werden.

Das CRP sensitiv stieg insgesamt signifikant an, allerdings war der Betrag äußerst gering (0,0 %). Da erst Werte von über 1 mg/dl eine signifikante Inflammation oder Infektion anzeigen (Nehring und Patel 2019), spielt das CRP als Entzündungsparameter also vermutlich keine weitere Rolle im Rahmen der kälteinduzierten Thermogenese.

Das freie T_3 nahm insgesamt leicht, aber signifikant nach KE ab. Angesichts der Tatsache, dass den Schilddrüsenhormonen eine bedeutende Rolle in der Thermogenese zukommt, indem sie zusammen mit den Katecholaminen wirken, ist es auf den ersten Blick verwunderlich, dass der Wert des freien T_3 nach KE abfiel und nicht anstieg (Behrends et al. 2012, S. 371). Neuere Forschungen zeigten auch, dass die Schilddrüsenhormone das braune Fettgewebe aktivieren (Broeders et al. 2016). Führt man sich jedoch den zirkadianen Rhythmus des freien T_3 vor Augen, nämlich einen sinusoiden Verlauf mit Höchstpunkt um ca. 4:00 Uhr und Tiefstwert um ca. 16:00 Uhr, so findet man eine mögliche Erklärung für den Abfall des freien T_3 (Russell et al. 2008). Hinzu kommt, dass die Dauer der KE in unserer Studie womöglich zu kurz war, um tiefgreifende Veränderungen des zirkulierenden T_3 auszulösen (Silva 2011).

Des Weiteren stieg das Adiponectin insgesamt signifikant nach KE an. Adiponectin ist ein Peptidhormon, das in Fettzellen gebildet wird (Adipokin) und u.a. an der Regulation des Hungergefühls und der Nahrungsaufnahme beteiligt ist (Wang und Scherer 2016). Es gibt widersprüchliche Literatur, was die Änderung des Adiponectin-Spiegels nach KE betrifft: So berichteten Imbeault et al. (2009) wie wir von einer Zunahme des Adiponectins nach KE, während Iwen et al. (2011) einen Abfall beschrieben. Dadurch, dass der Tiefstwert des Adiponectin-Spiegels am frühen Morgen erreicht wird (Gavrila et al. 2003), kann nicht ausgeschlossen werden, dass es sich bei der von uns festgestellten Zunahme lediglich um zirkadiane Veränderungen handelte. Eine Zunahme des Adiponectins könnte allerdings auch dadurch erklärt werden, dass Adiponectin – zumindest in Studien an Mäusen – auch das „Browning“ des weißen Fettgewebes induziert (Hui et al. 2015) und somit eine Zunahme des Adiponectins in einer höheren KIT resultieren könnte.

Zu guter Letzt sei auf die Dynamik des Leptins eingegangen. Es sank signifikant nach KE ab. Leptin ist ebenfalls ein Adipokin und an der Regulation des Hungergefühls beteiligt (Zhang und Chua 2017). Auch Ricci et al. (2000) und Zeyl et al. (2004) konnten ein Absinken des Leptins nach KE verzeichnen. Betrachtet man den zirkadianen Rhythmus von Leptin mit Maximum um ca. 1:00 Uhr und Minimum um ca. 11:00 Uhr, so könnte man auch hier wieder argumentieren, dass der Abfall des Leptins bloß einen Zeiteffekt widerspiegelt (Saad et al. 1998). Die Leptin-Ausschüttung wird jedoch gedrosselt, wenn Energie gebraucht wird (Triantafyllou et al. 2016). So macht es auch Sinn, dass das Leptin fällt, wenn man einem energieverbrauchenden Kältestimulus ausgesetzt wird.

Ein Nachteil an unserer Studie ist, dass wir keine Kontrollgruppe hatten, von der die verschiedenen Parameter ohne die Intervention (Kältestimulus) erfasst wurden. Somit sind Schwankungen in der zirkadianen Rhythmik der Laborwerte nicht auszuschließen als (Teil-)Verursacher der Dynamik. Dass keine Genotyp-spezifischen signifikanten Unterschiede in der Dynamik der Laborwerte gefunden wurden, bestätigt wiederum die These, dass der GNB3

C825T-Polymorphismus keinen Einfluss auf die thermogenetische Antwort bezüglich Metabolismus und Hormonhaushalt beim Menschen hat.

5.12 Genotypisierung des GNB3 C825T-Polymorphismus in Zusammenhang mit der Therapie von Adipositas durch die Aktivierung von braunem Fettgewebe

Klinisch bedeutsam und diese Dissertation abrundend ist die Frage, ob durch Genotypisierung des GNB3 C825T-Polymorphismus womöglich gar eine Vorhersage getroffen werden kann, wie gut Patient:innen mit unterschiedlichen Genotypen von Interventionen gegen Adipositas profitieren, die das braune Fettgewebe aktivieren.

Um diese Frage zu beantworten, muss zunächst eine andere, grundlegendere Frage beantwortet werden, nämlich: Ist das braune Fettgewebe überhaupt ein effektives Anti-Adipositas-Organ?⁹ Es scheint so simpel. Salopp gesagt: Man geht an die kühle Frischluft, der Grundumsatz steigt durch Aktivierung des braunen Fettgewebes und voilà! Die Kilos purzeln. Ganz so einfach ist es in der Realität aber natürlich nicht.

Würde man das braune Fett eines Menschen durch Kälteexposition maximal aktivieren, so könnte über ein Jahr betrachtet eine Energiemenge verbrannt werden, die rund 4 kg an Depotfett entspricht (Virtanen et al. 2009). Ein Rechenbeispiel: Nach der aktuellen S3-Leitlinie zur „Prävention und Therapie der Adipositas“ sollte ab einem BMI $> 35 \text{ kg/m}^2$ ein Gewichtsverlust von 10 % angestrebt werden (Wabitsch et al. 2014). Ein 100 kg schwerer, 170 cm großer Mann (BMI $\approx 35 \text{ kg/m}^2$) sollte also 10 kg abnehmen. Damit könnten bei maximaler Aktivierung seines braunen Fettgewebes folglich bis zu 40 % der angestrebten Gewichtsabnahme aus zitterfreier Wärmebildung kommen.

Da man in unseren Breiten allerdings nicht rund um die Uhr kälteexponiert leben kann, wäre ein realistischeres Szenario, man setzt adipöse Patient:innen über einen definierten Zeitraum einem Kältestimulus aus, um so ihren

Energieverbrauch anzukurbeln. Es gibt eine Studie von Yoneshiro et al. (2013), bei der ca. 20 Proband:innen mit niedriger Aktivität an braunem Fettgewebe zwei Stunden täglich moderater Kälte exponiert wurden (17 °C Lufttemperatur). Das Ergebnis: Nach sechs Wochen erhöhte sich der Grundumsatz bei Kälteexposition, also die kälteinduzierte Thermogenese, der Studienteilnehmenden um 167 %, wohingegen die Fettmasse um ca. 5 % abnahm. Das bedeutet, braunes Fett kann rekrutiert werden, auch wenn ein Individuum, wie es bei Adipösen oft der Fall ist, zuvor nur wenig Aktivität desselben gezeigt hat – eine vielversprechende Erkenntnis. Es änderte sich nach den sechs Wochen allerdings nichts am Grundumsatz bei neutralen Temperaturen.

Nichtsdestotrotz scheint die Aktivierung des braunen Fettgewebes ein attraktiver Mechanismus zur Bekämpfung von Übergewicht und Adipositas zu sein. Wir erinnern uns: *Physiologisch* wird braunes Fettgewebe vor allem durch Kälte und die damit einhergehende sympathische Stimulation aktiviert. Aber auch *pharmakologisch* kann es aktiviert werden, so beispielsweise durch künstliche Entkoppler wie 2,4-Dinitrophenol (DNP), β_3 -Agonisten oder Appetitzügler wie Sibutramin. Keines dieser Medikamente ist allerdings aktuell auf dem Markt, weil sie alle nur eine geringe therapeutische Breite, dafür aber gravierende Nebenwirkungen besitzen (Lidell et al. 2014). Die Entwicklung neuer pharmakologischer Strategien zur Stimulation der zitterfreien Wärmebildung wäre also ein wichtiger Schritt in der Therapie der Adipositas. Sind erst einmal neue Wege zur pharmakologischen Aktivierung des braunen Fetts gefunden, so lohnt es sich auch zu untersuchen, inwieweit diese durch Gene – etwa GNB3 – beeinflusst werden.

Der GNB3 C825T-Polymorphismus hat, so sprechen unsere Daten, keinen Einfluss auf die kälteinduzierte Thermogenese bei jungen, gesunden Individuen. Es kann somit durch Genotypisierung auch keine Aussage darüber getroffen werden, wie gut Patient:innen mit unterschiedlichen Genotypen von Interventionen gegen Adipositas profitieren, die sich die kälteinduzierte Thermogenese zunutze machen.

Zum Abschluss lässt sich sagen: Eine Genotypisierung des GNB3 C825T-Polymorphismus ist nicht zielführend für die Entscheidung, ob Adipöse eine Behandlung erhalten sollen, die das braune Fettgewebe durch Kälteexposition aktiviert. Dies liegt darin begründet, dass der SNP keinen Einfluss auf die kälteinduzierte Thermogenese hat und deshalb allen Patient:innen gleichermaßen zu einer möglichen Therapie geraten werden sollte. Wie genau eine derartige „Kältetherapie“ strukturiert sein soll, kann derzeit noch nicht beantwortet werden. Ob der GNB3 C825T-Polymorphismus Auswirkungen auf pharmakologische Interventionen am braunen Fettgewebe hat, bleibt offen. Die Rolle weiterer genetischer Polymorphismen in Zusammenhang mit der kälteinduzierten Thermogenese muss fortan genauer untersucht werden.

6. Zusammenfassung

Hintergrund: Der GNB3 C825T-Polymorphismus steht in Zusammenhang mit Adipositas und verminderter noradrenalinvermittelter Lipolyse. Der Einfluss des 825T-Allels auf die kälteinduzierte Thermogenese (KIT) ist unbekannt.

Zielsetzung: Ziel war es, zu untersuchen, ob moderate Kälteexposition (KE) den Grundumsatz (GU) und physiologische und metabolische Parameter unterschiedlich beeinflusst abhängig vom Genotyp.

Design: Die FREECE-Studie war eine Querschnittsstudie in der Allgemeinbevölkerung. Daten von 156 jungen, gesunden Kaukasier:innen (79 Frauen und 77 Männer) wurden analysiert. Die Proband:innen unterzogen sich einem individualisierten Kühlprotokoll unter Verwendung wasserdurchfluteter Decken, um die zitterfreie Wärmebildung im braunen Fettgewebe zu aktivieren. Der GU wurde vor und nach zweistündiger KE gemessen, gekoppelt mit Blutdruck-(RR-) und Herzfrequenz-(HF-)Messung sowie jeweils einer Blutentnahme. Eine Genotypisierung des GNB3 C825T-Polymorphismus wurde durchgeführt. Körperoberflächen- und -kerntemperaturen wurden über das gesamte Experiment hinweg beobachtet. Ausgewählte Metaboliten und Hormone wurden bestimmt.

Ergebnisse: 46,8 % hatten Genotyp CC, 42,3 % hatten Genotyp CT und 10,9 % hatten Genotyp TT. Alle Gruppen zeigten eine signifikante GU-Zunahme nach KE (5,5 %; $p_{CC} < 0,001$, $p_{CT} = 0,010$, $p_{TT} = 0,013$). Es gab dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen ($p = 0,398$). Der systolische RR nahm signifikant zu in der CC- und CT-Gruppe (beide: $p = 0,001$), jedoch nicht in der TT-Gruppe ($p = 0,143$). Die supraclaviculäre Temperatur zeigte insgesamt keine signifikante Abnahme ($p = 0,518$). Bei den Veränderungen im Blutzucker, Triglyceriden, NEFA, freien T₃, Adiponectin und Leptin ließen sich keine relevanten Unterschiede zwischen den Genotypen feststellen.

Schlussfolgerung: Der GNB3 C825T-Polymorphismus hat keinen Effekt auf die KIT bei jungen, gesunden Menschen. Insofern ist eine Genotypisierung dieses Polymorphismus nicht prädiktiv für den Erfolg möglicher Interventionen gegen Adipositas, die sich die KIT zunutze machen.

Literaturverzeichnis

Bagos, P. G., et al. (2007). "The GNB3 C825T polymorphism and essential hypertension: a meta-analysis of 34 studies including 14,094 cases and 17,760 controls." J Hypertens 25(3): 487-500.

Behrends, J. C., et al. (2012). Duale Reihe Physiologie. Stuttgart, Thieme.

Benjafield, A. V., et al. (2001). "G-protein beta3 subunit gene splice variant in obesity and overweight." Int J Obes Relat Metab Disord 25(6): 777-780.

Berrington de Gonzalez, A., et al. (2010). "Body-mass index and mortality among 1.46 million white adults." N Engl J Med 363(23): 2211-2219.

Blondin, D. P., et al. (2017). "Inhibition of Intracellular Triglyceride Lipolysis Suppresses Cold-Induced Brown Adipose Tissue Metabolism and Increases Shivering in Humans." Cell Metab 25(2): 438-447.

Boon, M. R., et al. (2014). "Supraclavicular skin temperature as a measure of 18F-FDG uptake by BAT in human subjects." PLoS One 9(6): e98822.

Broeders, E. P., et al. (2016). "Thyroid Hormone Activates Brown Adipose Tissue and Increases Non-Shivering Thermogenesis--A Cohort Study in a Group of Thyroid Carcinoma Patients." PLoS One 11(1): e0145049.

Brychta, R. J. and K. Y. Chen (2017). "Cold-induced thermogenesis in humans." Eur J Clin Nutr 71(3): 345-352.

Buselmaier, W. (2015). Biologie für Mediziner. Berlin Heidelberg, Springer.

Cannon, B. and J. Nedergaard (2004). "Brown adipose tissue: function and physiological significance." Physiol Rev 84(1): 277-359.

Daanen, H. A. and W. D. Van Marken Lichtenbelt (2016). "Human whole body cold adaptation." Temperature (Austin) 3(1): 104-118.

- Day, F. R. and R. J. Loos (2011). "Developments in obesity genetics in the era of genome-wide association studies." J Nutrigenet Nutrigenomics 4(4): 222-238.
- Dishy, V., et al. (2003). "G-protein beta(3) subunit 825 C/T polymorphism is associated with weight gain during pregnancy." Pharmacogenetics 13(4): 241-242.
- Dong, Y., et al. (1999). "Association between the C825T polymorphism of the G protein beta3-subunit gene and hypertension in blacks." Hypertension 34(6): 1193-1196.
- Fedorenko, A., et al. (2012). "Mechanism of fatty-acid-dependent UCP1 uncoupling in brown fat mitochondria." Cell 151(2): 400-413.
- Gavrila, A., et al. (2003). "Diurnal and ultradian dynamics of serum adiponectin in healthy men: comparison with leptin, circulating soluble leptin receptor, and cortisol patterns." J Clin Endocrinol Metab 88(6): 2838-2843.
- Hanssen, M. J., et al. (2016). "Short-term Cold Acclimation Recruits Brown Adipose Tissue in Obese Humans." Diabetes 65(5): 1179-1189.
- Harms, V. (2016). Physik für Mediziner und Pharmazeuten. Mönkeberg, Harms Verlag.
- Hauner, H., et al. (2003). "Prediction of successful weight reduction under sibutramine therapy through genotyping of the G-protein beta3 subunit gene (GNB3) C825T polymorphism." Pharmacogenetics 13(8): 453-459.
- Hauner, H., et al. (2002). "Effects of the G-protein beta3 subunit 825T allele on adipogenesis and lipolysis in cultured human preadipocytes and adipocytes." Horm Metab Res 34(9): 475-480.
- Heine, M., et al. (2018). "Lipolysis Triggers a Systemic Insulin Response Essential for Efficient Energy Replenishment of Activated Brown Adipose Tissue in Mice." Cell Metab 28(4): 644-655.e644.

Hinney, A., et al. (2001). "No evidence for involvement of alleles of the 825-C/T polymorphism of the G-protein subunit beta 3 in body weight regulation." Exp Clin Endocrinol Diabetes **109**(8): 402-405.

Hsiao, T. J., et al. (2013). "Association of the C825T polymorphism in the GNB3 gene with obesity and metabolic phenotypes in a Taiwanese population." Genes Nutr **8**(1): 137-144.

Hui, X., et al. (2015). "Adiponectin Enhances Cold-Induced Browning of Subcutaneous Adipose Tissue via Promoting M2 Macrophage Proliferation." Cell Metab **22**(2): 279-290.

Imbeault, P., et al. (2009). "Cold exposure increases adiponectin levels in men." Metabolism **58**(4): 552-559.

Ishikawa, K., et al. (2000). "Human G-protein beta3 subunit variant is associated with serum potassium and total cholesterol levels but not with blood pressure." Am J Hypertens **13**(2): 140-145.

ISO9886 (2004). Ergonomics Evaluation of thermal strain by physiological measurements. Geneva, International Standards Organization.

Iwen, K. A., et al. (2017). "Cold-Induced Brown Adipose Tissue Activity Alters Plasma Fatty Acids and Improves Glucose Metabolism in Men." J Clin Endocrinol Metab **102**(11): 4226-4234.

Iwen, K. A., et al. (2011). "Cold-induced alteration of adipokine profile in humans." Metabolism **60**(3): 430-437.

Knoll, K.-P. (2008). "Kosten der Adipositas in der Bundesrepublik Deutschland."

Kurnik, D., et al. (2008). "Genetic variants in the alpha2C-adrenoceptor and G-protein contribute to ethnic differences in cardiovascular stress responses." Pharmacogenet Genomics **18**(9): 743-750.

Kurth, B.-M. (2012). "Erste Ergebnisse aus der "Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland" (DEGS)."

Lee, P., et al. (2014). "Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans." Cell Metab **19**(2): 302-309.

Levine, M. A., et al. (1990). "Molecular cloning of beta 3 subunit, a third form of the G protein beta-subunit polypeptide." Proc Natl Acad Sci U S A **87**(6): 2329-2333.

Li, H. L., et al. (2016). "Association between GNB3 c.825C > T polymorphism and the risk of overweight and obesity: A meta-analysis." Meta Gene **9**: 18-25.

Lidell, M. E., et al. (2014). "Brown adipose tissue and its therapeutic potential." J Intern Med **276**(4): 364-377.

Lüllmann-Rauch, R. (2012). Taschenlehrbuch Histologie. Stuttgart, Thieme.

Markelic, M., et al. (2011). "Endothelial cell apoptosis in brown adipose tissue of rats induced by hyperinsulinaemia: the possible role of TNF-alpha." Eur J Histochem **55**(4): e34.

Martin, D. N., et al. (2005). "G-protein beta-3 subunit gene C825 T polymorphism: influence on plasma sodium and potassium concentrations in essential hypertensive patients." Life Sci **77**(23): 2879-2886.

Martinez-Tellez, B., et al. (2019). "Supraclavicular skin temperature measured by iButtons and (18)F-fluorodeoxyglucose uptake by brown adipose tissue in adults." J Therm Biol **82**: 178-185.

Martinez-Tellez, B., et al. (2019). "Concurrent validity of supraclavicular skin temperature measured with iButtons and infrared thermography as a surrogate marker of brown adipose tissue." J Therm Biol **82**: 186-196.

Nedergaard, J., et al. (2007). "Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans." Am J Physiol Endocrinol Metab **293**(2): E444-452.

Nehring, S. M. and B. C. Patel (2019). C Reactive Protein (CRP). StatPearls. Treasure Island (FL), StatPearls Publishing

StatPearls Publishing LLC.

Nejatizadeh, A., et al. (2011). "Association of GNB3 C825T polymorphism with plasma electrolyte balance and susceptibility to hypertension." Genet Mol Biol 34(4): 553-556.

Nishikawa, T. and A. Namiki (1988). "Mechanism for slowing of heart rate and associated changes in pulmonary circulation elicited by cold injectate during thermodilution cardiac output determination in dogs." Anesthesiology 68(2): 221-225.

Ohshiro, Y., et al. (2001). "Analysis of 825C/T polymorphism of G protein beta3 subunit in obese/diabetic Japanese." Biochem Biophys Res Commun 286(4): 678-680.

Ozdemir, A. C., et al. (2017). "GNB3 overexpression causes obesity and metabolic syndrome." PLoS One 12(12): e0188763.

Pereira, T. V., et al. (2014). "Multivariate meta-analysis of the association of G-protein beta 3 gene (GNB3) haplotypes with cardiovascular phenotypes." Mol Biol Rep 41(5): 3113-3125.

Rankinen, T., et al. (2002). "G protein beta 3 polymorphism and hemodynamic and body composition phenotypes in the HERITAGE Family Study." Physiol Genomics 8(2): 151-157.

Rassow, J., et al. (2012). Duale Reihe Biochemie. Stuttgart, Thieme.

Ricci, M. R., et al. (2000). "Acute cold exposure decreases plasma leptin in women." Metabolism 49(4): 421-423.

- Rong, S. L., et al. (2017). "Association of G-protein beta3 subunit C825T polymorphism with essential hypertension: evidence from 63 729 subjects." J Hum Hypertens 31(8): 511-514.
- Roskopf, D., et al. (2000). "G protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms." Hypertension 36(1): 33-41.
- Russell, W., et al. (2008). "Free triiodothyronine has a distinct circadian rhythm that is delayed but parallels thyrotropin levels." J Clin Endocrinol Metab 93(6): 2300-2306.
- Ryden, M., et al. (2002). "Effect of the (C825T) Gbeta(3) polymorphism on adrenoceptor-mediated lipolysis in human fat cells." Diabetes 51(5): 1601-1608.
- Saad, M. F., et al. (1998). "Diurnal and ultradian rhythmicity of plasma leptin: effects of gender and adiposity." J Clin Endocrinol Metab 83(2): 453-459.
- Sidossis, L. and S. Kajimura (2015). "Brown and beige fat in humans: thermogenic adipocytes that control energy and glucose homeostasis." J Clin Invest 125(2): 478-486.
- Siffert, W., et al. (1999). "Worldwide ethnic distribution of the G protein beta3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and Black African individuals." J Am Soc Nephrol 10(9): 1921-1930.
- Silva, J. E. (2011). "Physiological importance and control of non-shivering facultative thermogenesis." Front Biosci (Schol Ed) 3: 352-371.
- Slocinska, M., et al. (2016). "Uncoupling proteins of invertebrates: A review." IUBMB Life 68(9): 691-699.
- Sousa, A. C., et al. (2018). "The genetic variant C825T of the beta 3 subunit of G protein is associated with hypertension in a Portuguese population." Rev Port Cardiol 37(6): 499-507.

Sperling, H., et al. (2003). "Sildenafil response is influenced by the G protein beta 3 subunit GNB3 C825T polymorphism: a pilot study." J Urol **169**(3): 1048-1051.

Triantafyllou, G. A., et al. (2016). "Leptin and Hormones: Energy Homeostasis." Endocrinol Metab Clin North Am **45**(3): 633-645.

van der Lans, A. A., et al. (2016). "Supraclavicular skin temperature and BAT activity in lean healthy adults." J Physiol Sci **66**(1): 77-83.

van Marken Lichtenbelt, W. D., et al. (2009). "Cold-activated brown adipose tissue in healthy men." N Engl J Med **360**(15): 1500-1508.

Virtanen, K. A., et al. (2009). "Functional brown adipose tissue in healthy adults." N Engl J Med **360**(15): 1518-1525.

Vosselman, M. J., et al. (2012). "Systemic beta-adrenergic stimulation of thermogenesis is not accompanied by brown adipose tissue activity in humans." Diabetes **61**(12): 3106-3113.

Wabitsch, M., et al. (2014). "Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur "Prävention und Therapie der Adipositas"."

Wang, L., et al. (2012). "Association between genetic variants of the ADD1 and GNB3 genes and blood pressure response to the cold pressor test in a Chinese Han population: the GenSalt Study." Hypertens Res **35**(8): 805-810.

Wang, Y. C., et al. (2005). "C825T polymorphism in the human G protein beta3 subunit gene is associated with long-term clozapine treatment-induced body weight change in the Chinese population." Pharmacogenet Genomics **15**(10): 743-748.

Wang, Z. V. and P. E. Scherer (2016). "Adiponectin, the past two decades." J Mol Cell Biol **8**(2): 93-100.

Warner, A. and J. Mittag (2016). "Breaking BAT: can browning create a better white?" J Endocrinol **228**(1): R19-29.

Weir, G., et al. (2018). "Substantial Metabolic Activity of Human Brown Adipose Tissue during Warm Conditions and Cold-Induced Lipolysis of Local Triglycerides." Cell Metab **27**(6): 1348-1355.e1344.

Weir, J. B. (1949). "New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism." J Physiol **109**(1-2): 1-9.

WHO (2000). "Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation." World Health Organ Tech Rep Ser **894**: i-xii, 1-253.

Wijers, S. L., et al. (2011). "Beta-adrenergic receptor blockade does not inhibit cold-induced thermogenesis in humans: possible involvement of brown adipose tissue." J Clin Endocrinol Metab **96**(4): E598-605.

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

Yoneshiro, T., et al. (2013). "Recruited brown adipose tissue as an antiobesity agent in humans." J Clin Invest **123**(8): 3404-3408.

Zeyl, A., et al. (2004). "Interactions between temperature and human leptin physiology in vivo and in vitro." Eur J Appl Physiol **92**(4-5): 571-578.

Zhang, Y. and S. Chua, Jr. (2017). "Leptin Function and Regulation." Compr Physiol **8**(1): 351-369.

Anhang

1. Material
2. Software
3. Einwilligungserklärung
4. Aushang
5. Screeningbogen
6. Case Report Form und Anamnesebogen
7. Ernährungsprotokoll
8. Anleitung zum Ernährungsprotokoll
9. Anleitung zum Sammeln von Stuhlproben zur Bestimmung der Bakterienzusammensetzung
10. SOP Anweisungen für die Stuhl-Gewinnung
11. SOP Messung der Körpergröße
12. SOP Taillen-Hüftumfang
13. SOP Bioimpedanzanalyse (BIA) mittels Tanita BC 418 MA
14. SOP Bioimpedanzanalyse (BIA) Seca mBCA 515
15. SOP Elektronische Messung des systolischen und diastolischen Blutdrucks (RR)
16. SOP Messung der Blutsauerstoffsättigung und des Herzschlags mittels Pulsoximeters
17. SOP Messung der Körperoberflächentemperatur mittels ThermoChron iButton Temperatursensoren
18. SOP Messung der Kerntemperatur mittels „Zero Heat Flux Thermometry“ SpotOn Systems
19. Kühlprotokoll
20. SOP Kälteexposition mittels MaxiTermLite Decken zur Aktivierung des braunen Fettgewebes
21. SOP Messung des Grundumsatzes über indirekte Kalorimetrie bei spontan atmenden Personen mittels COSMED Quark RMR
22. SOP Standardisierte Blutentnahme (BE)

I. Material

Material		
	Produkt	Firma
Stadiometer	seca 217	seca gmbh & co. kg. Hammer Steindamm 3 25 22089 Hamburg Deutschland
Körperfettwaagen	BC-418 Segmental Body Composition Analyzer	Tanita Europe BV Hoogoorddreef 56E 1101 BE Amsterdam Niederlande
	seca mBCA 515	seca gmbh & co. kg. Hammer Steindamm 3 25 22089 Hamburg Deutschland
Blutdruckmessgerät	OMRON M8 Comfort OMRON M300	OMRON Medizintechnik Handelsgesellschaft mbH Konrad-Zuse-Ring 28 68163 Mannheim Deutschland
Pulsoximeter	PULOX P-300	Novidion GmbH Fuggerstraße 30 51149 Köln Deutschland
Temperaturdatenlogger	Thermochron iButtons DS1921H	Maxim Integrated 160 Rio Robles San Jose, CA 95134 USA
Körperkerntemperatursensor	3M Bair Hugger Temperatur Monitor 37010	3M Infection Prevention Division 3M Health Care 3M Center, Building 275-4E-01 St. Paul, MN 55144-1000 USA
Wasserdurchflutete Decken	Maxi-Therm Lite Blankets	Gentherm Incorporated 21680 Haggerty Road Northville, MI 48167 USA
Kältethermostat	WiseCircu WCR-P8	witeg Labortechnik GmbH Am Bildacker 16 97877 Wertheim Deutschland
Indirektes Kalorimeter	COSMED Quark RMR 1.0 [Freising] COSMED Quark RMR 2.0 [Freising] COSMED Quark RMR 1.0 [München]	COSMED srl Via dei Piani di Mt. Savello 37 Albano Laziale - Rome 00041 Italien
Monovetten	S-Monovette K3 EDTA S-Monovette Z-Gel S-Monovette LH	SARSTEDT AG & Co. KG Sarstedtstraße 1 51588 Nümbrecht Deutschland
Cryovials	Cryo.s 2 ml, Innengewinde	Greiner Bio-One GmbH Maybachstraße 2 72636 Frickenhausen Deutschland
Blutzuckermessgerät	HemoCue Glucose 201+ System	Radiometer GmbH Europark Fichtenhain A 4 47807 Krefeld Deutschland
Protein Saver Cards	Whatman 903 Protein Saver Cards	Sigma-Aldrich Chemie GmbH Eschenstr. 5 82024 Taufkirchen Deutschland

Zentrifugen	Eppendorf Centrifuge 5702 R [Studieneinheit] Eppendorf Centrifuge 5415 D [Labor Freising] Eppendorf Centrifuge 5424 R [Labor Freising]	Eppendorf AG Barkhausenweg 1 22339 Hamburg Deutschland
	Hettich Rotanta 460 R [München]	Andreas Hettich GmbH & Co.KG Föhrenstraße 12 78532 Tuttlingen Deutschland
Plattformschüttler	Heidolph Titramax 100	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG Walpersdorfer Straße 12 9126 Schwabach Deutschland
Thermoblock	Eppendorf Thermomixer comfort	Eppendorf AG Barkhausenweg 1 22339 Hamburg Deutschland
Thermocycler	Eppendorf Mastercycler gradient	Eppendorf AG Barkhausenweg 1 22339 Hamburg Deutschland
Photometer	Tecan Infinite M200	Tecan Group Ltd. Seestraße 103 8708 Männedorf Schweiz
Kits	Wako NEFA-HR(2)	FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH Fuggerstraße 12 41468 Neuss Deutschland
	DRG Insulin ELISA (EIA-2935)	DRG Instruments GmbH Frauenbergstraße 18 35039 Marburg Deutschland
	R&D Systems Human Adiponectin/Acrp30 DuoSet ELISA R&D Systems Human Leptin DuoSet ELISA	R&D Systems, Inc. 614 McKinley Place NE Minneapolis, MN 55413 USA
	DNeasy Blood & Tissue Kit (250)	QIAGEN Benelux B.V. Hulsterweg 82 5912 PL Venlo The Netherlands
	Q5 High-Fidelity 2X Master Mix	New England Biolabs Inc. 240 County Road Ipswich, MA 01938-2723 USA

2. Software

Software	Produktname	Firma
Ernährungsprotokoll	OptiDiet PLUS Version 5.1.2.046	GOE mbH Büro Linden Haydnstraße 9 35440 Linden Deutschland
	seca analytics 115	seca gmbh & co. kg. Hammer Steindamm 3 25 22089 Hamburg Deutschland
Pulsoximeter	SpO2 Review Version 1.5	Novidion GmbH Fuggerstraße 30 51149 Köln Deutschland
Temperaturdatenlogger	OneWire-Viewer Version 0.3.19.47	Maxim Integrated 160 Rio Robles San Jose, CA 95134 USA
Indirektes Kalorimeter	Quark RMR 10.0e [Freising, München]	COSMED srl
	Omnia 1.5 [Freising]	Via dei Piani di Mt. Savello 37 Albano Laziale - Rome 00041 Italien
Excel	Microsoft Excel 2016	Microsoft Corporation
	Microsoft Excel 2019	One Microsoft Way Redmond, WA 98052-6399 USA
Numbers	Apple Numbers Version 5.1	Hollyhill Industrial Estate Hollyhill, Cork Irland
Photometer	Tecan i-control 1.7 (2005)	Tecan Group Ltd. Seestraße 103 8708 Männedorf Schweiz
Konzentrationsbestimmung	GraphPad PRISM Version 5.2	GraphPad Software, Inc. 7825 Fay Avenue, Suite 230 La Jolla, CA 92037 USA
Wetterdaten	Website des Deutschen Wetterdienstes (www.dwd.de)	Deutscher Wetterdienst Frankfurter Straße 135 63067 Offenbach am Main Deutschland
Statistik und Analyse	GraphPad PRISM Version 8	GraphPad Software, Inc. 7825 Fay Avenue, Suite 230 La Jolla, CA 92037 USA
	IBM SPSS Statistics 23	IBM Corporate Headquarters 1 Orchard Rd Armonk, NY 10504 USA

3. Einwilligungserklärung



Ernährungsmedizin
Prof. Dr. Hans Hauner
Gregor-Mendel-Straße 2
85350 Freising

Einwilligungserklärung

Veränderung des Ruheenergieverbrauchs nach definierter Kältebelastung

Teilnehmer/-in: _____

(Name, Vorname)

Adresse _____

Geb.-Datum: _____

Ich bin damit einverstanden, dass meine Blutprobe/Stuhlprobe und Daten, wie in der Teilnehmerinformation beschrieben, an den Lehrstuhl für Ernährungsmedizin der Technischen Universität (TU) München gegeben und unbefristet für medizinische Forschungszwecke verwendet werden.

Durch meine Unterschrift bestätige ich, dass ich den Inhalt der Informationsschrift gelesen und verstanden habe. Ich hatte die Gelegenheit, Fragen zu stellen. Meine Fragen wurden mir zufriedenstellend beantwortet.

Ich weiß, dass meine Teilnahme freiwillig ist und ich meine Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen widerrufen kann, ohne dass mir daraus irgendwelche Nachteile entstehen.

Ich bin damit einverstanden, dass ich evtl. zu einem späteren Zeitpunkt erneut kontaktiert werde (ggf. streichen).

Datenschutzerklärung:

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass der Lehrstuhl für Ernährungsmedizin der TU München Biomaterialien von mir unbefristet lagert und pseudonymisiert (verschlüsselt) für medizinische Forschungsvorhaben nutzt. Ferner stimme ich zu, dass personenbezogene Daten, insbesondere Angaben über meine Gesundheit, über mich erhoben oder aus meinen Krankenunterlagen entnommen und beim Lehrstuhl für Ernährungsmedizin der TU München aufgezeichnet und pseudonymisiert (verschlüsselt) für medizinische Forschungsvorhaben genutzt werden. Die Biomaterialien und Daten dürfen für medizinische Forschungsvorhaben unbefristet verwendet werden und pseudonymisiert (verschlüsselt) an Universitäten, Forschungsinstitute und forschende Unternehmen, ggf. auch ins Ausland, weitergegeben werden.

Ich bin darüber aufgeklärt worden, dass ich jederzeit die Teilnahme ohne Begründung beenden kann. Beim Widerruf meiner Einwilligung gegenüber dem Lehrstuhl für Ernährungsmedizin der TU München habe ich das Recht, die Löschung der Verknüpfung zu den mich unmittelbar identifizierenden Daten (Name, Geburtsdatum, Anschrift etc.) bzw. falls möglich auch die Löschung/Sperrung aller meiner bis dahin gespeicherten personenbezogenen Daten bzw. die Vernichtung der Biomaterialien für die Zukunft zu verlangen.

Der Lehrstuhl für Ernährungsmedizin der TU München versichert mir, meine Daten entsprechend den datenschutzrechtlichen Bestimmungen vertraulich zu behandeln.

Eine Kopie der Teilnehmerinformation und Einwilligungserklärung habe ich erhalten. Das Original verbleibt am Lehrstuhl für Ernährungsmedizin der TU München.

Name des Teilnehmers in Druckbuchstaben

Ort, Datum (vom Teilnehmer einzutragen) Unterschrift Teilnehmer/in

Ich habe das Aufklärungsgespräch geführt und die Einwilligung des Teilnehmers eingeholt.

Name des Arztes in Druckbuchstaben

Ort, Datum Unterschrift des Arztes

4. Aushang



Ernährungsmedizin

Prof. Dr. Hans Hauner
Gregor-Mendel-Straße 2
85350 Freising

Teilnehmer gesucht

Die Abteilung Ernährungsmedizin des ZIEL – Institute for Food and Health führt in Weihenstephan eine Untersuchung zur Veränderung des Ruheenergieverbrauchs („Grundumsatz“) unter Kälteeinfluss durch („FREECE“-Studie). Mittels einer moderaten Abkühlung, die noch kein Muskelzittern auslöst, wollen wir untersuchen, ob das braune Fettgewebe aktiviert werden kann, das der Mensch sonst vor allem als Säugling besitzt. Unser Interesse ist es, Veränderungen des Energieverbrauchs zwischen warmen und kühlen Umgebungsbedingungen und die beteiligten genetischen Faktoren zu erfassen.

Dazu werden gesunde Personen (m/w, 18 – 40 Jahre), Nichtraucher mit einem BMI zwischen 18,5 und 40 kg/m² gesucht. Die Studie findet wahlweise am Human Study Center (Gregor-Mendel-Str. 2, Freising), oder am Institut für Ernährungsmedizin (Georg-Brauchle-Ring, München) statt.

Melden Sie sich bitte bei Interesse und für weitere Informationen bei Frau Laura Mengel, Tel. (08161)-71 2397, oder per Mail unter laura.mengel@tum.de.

Für die Teilnahme wird eine angemessene Aufwandsentschädigung gezahlt.

Screeningnummer | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ |

Ein- und Ausschlusskriterium	JA	NEIN	Kommentar
Aktuelle Teilnahme an Interventionsstudien			
Schwangerschaft			
Raucher			
Übermäßige sportliche Aktivität (mehr als 3 Mal 60 min pro Woche)			
Chronische Erkrankungen (ärztliche Diagnose):			
• Chronische Infektionen (z.B. HIV)			
• Diagnostizierte Lebererkrankungen (z.B. HCV, HBV)			
• Diagnostizierter Diabetes mellitus			
• Unbehandelte endokrinologische Erkrankungen (z.B. Schilddrüsenüber- oder -unterfunktion)			
• Diagnostizierte Autoimmunerkrankung (z.B. Rheuma, Colitis Ulcerosa, Morbus Crohn)			
• Diagnostizierter Herzinfarkt innerhalb der letzten 3 Jahre			
• Diagnostizierter Schlaganfall innerhalb der letzten 3 Jahre			
• Herzschrittmacher			
• Unbehandelter Bluthochdruck (>160/95 mmHg)			
• Herzkrankheit, die innerhalb der letzten 3 Jahre ärztlich behandelt werden musste			
• Krebserkrankung, die innerhalb der letzten 3 Jahre ärztlich behandelt werden musste			
• Diagnostizierte psychische oder neurologische Erkrankungen in den letzten 3 Jahren (z.B. Schizophrenie, Epilepsie, Depression, Multiple Sklerose)			
Bluttransfusion in den letzten 3 Monaten			
Antibiotikabehandlung in den letzten 6 Wochen			
Immobilität (z.B. an den Rollstuhl gebunden)			
Kein stabiles Körpergewicht in den letzten drei Monaten (+-3kg)			

Screeningnummer |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

Sonstige Informationen:

Medikamente

(Hinweis Medikamentenliste soll bei der Visite mitgebracht werden)

Erkrankungen / Akute Erkrankungen (z.B. Erkältung, Fieber, Durchfall, Bronchitis, Blasenentzündung)

(Hinweis Befunde des letzten halben Jahres sollen zur Visite mitgebracht werden)

FREECE- Studie

CASE REPORT FORM



***Veränderung des Ruheenergieverbrauchs nach
definierter Kälteanwendung***

Teilnehmer Code |_|_|_|_|_|



■ Version vom 13.12.2016 ■



Teilnehmer Code	
Visite 1	Datum: ____/____/____ Tag Monat Jahr

Allgemeine Angaben

Geburtsdatum: |_|_|_|_|.|_|_|_|_|.|_|_|_|_|_|_|_|_|

Alter: |_|_|_| Jahre

Geschlecht: männlich weiblich

Untersuchungsvorbereitung

- Teilnehmer nüchtern? ja nein*
- Haben Sie heute (d.h. seit Mitternacht) schon geraucht? ja* nein
- Wann haben Sie gestern zum letzten Mal etwas gegessen? |_|_|_|_|:|_|_|_| Uhr
- Haben Sie am Vorabend bzw. am Morgen Sport gemacht? ja* nein
- Haben Sie in den letzten 24 h Koffein zu sich genommen? ja* nein
- Sind Sie schwanger oder stillen Sie? ja* nein
- *Neuer Termin? ja, am _____

Anthropometrie-/ BIA- Messung

Körpergröße:

|_|_|_|_|, |_| cm

Körpervermessung:

Taillenumfang |_|_|_|_|_|, |_| cm

Hüftumfang |_|_|_|_|_|, |_| cm

Taillen-Hüft- Umfang |_|, |_|_|_|_|_|

BIA-Messung (TANITA)

Körpergewicht |_|_|_|, |_| kg

Fettanteil: |_|_|_|, |_| %

Fettmasse: |_|_|_|, |_| kg

Fettfreie Masse Ganzkörper (FFM): |_|_|_|, |_| kg

Körperwasser |_|_|_|, |_| kg

Grundumsatz |_|_|_|_|_| kcal/d

Impedanz ganzer Körper |_|_|_|_| Ω

Ausdruck (TANITA) nachfolgend angefügt? ja nein



■ Version vom 13.12.2016 ■



Teilnehmer Code

Körperzusammensetzung (SECA)

Körpergewicht	_ _ _ , _ _ kg
BMI	_ _ _ , _ _ kg/m ²
Gesamtkörperwasser	_ _ _ , _ _ L
Gesamtkörperwasser	_ _ _ , _ _ %
Extrazelluläres Wasser:	_ _ _ , _ _ L
Extrazelluläres Wasser:	_ _ _ , _ _ %
Hydratation	_ _ _ , _ _ %
Fettfreie Masse	_ _ _ , _ _ kg
Fettfreie Masse	_ _ _ , _ _ %
Fettfreie-Masse-Index	_ _ _ , _ _ kg/m ²
Fettmasse:	_ _ _ , _ _ kg
Fettmasse:	_ _ _ , _ _ %
Fettmasse-Index	_ _ _ , _ _ kg/m ²
Skelettmuskelmasse (gesamt)	_ _ _ , _ _ kg
Rechter Arm Skelettmuskelmasse	_ , _ _ kg
Linker Arm Skelettmuskelmasse	_ , _ _ kg
Rechtes Bein Skelettmuskelmasse	_ , _ _ kg
Linkes Bein Skelettmuskelmasse	_ , _ _ kg
Torso Skelettmuskelmasse	_ _ _ , _ _ kg
Viszerales Fett	_ _ _ , _ _ L
Ruheenergieverbrauch	_ _ _ _ _ , _ _ kcal/d
Gesamtenergieverbrauch	_ _ _ _ _ , _ _ kcal/d
Resistanz (R)	_ _ _ _ , _ _ Ω
Reaktanz (Xc)	_ _ _ , _ _ Ω
Phasenwinkel (φ)	_ _ _ , _ °



■ Version vom 13.12.2016 ■



Teilnehmer Code

Blutdruck (Thermoneutralität)

Blutdruck im Ruhezustand (systolisch/diastolisch in mmHg):

Messung dominanter Arm /

Messung nicht dominanter Arm /

Messung 1 (am Arm mit höherem Wert) /

Messung 2 (am Arm mit höherem Wert) /

Mittelwert (Messung 1, 2 + Arm mit höherem Wert) /

Herzfrequenz Messung 1 Schläge/min

Herzfrequenz Messung 2 Schläge/min

Mittelwert (Herzfrequenz Messung 1+2) Schläge/min

Ruheumsatzmessung (Thermoneutralität)

Uhrzeit : Uhr

Temperaturanzeige am Kühlgerät: °C

RMR: kcal/Tag

RQ:

VO₂: ml/min

VCO₂: ml/min

VE: l/min

FAT: %

CHO: %

Temperaturanzeige am Gerät: °C

Barometerdruck: mmHg

Bemerkung zur Messung: _____

Ausdruck nachfolgend angefügt? ja nein

Kühlprotokoll

Kühlprotokoll nachfolgend angefügt? ja nein

Bemerkungen: _____



■ Version vom 13.12.2016 ■



Teilnehmer Code

Blutabnahme nüchtern (P01)

Analysecodierung (Synlab) _____

EDTA-Plasma (2,7 ml für Synlab) k.A. 1x

Serum-Gel (9 ml) k.A. 1x

EDTA-Plasma ohne Gel (9 ml) k.A. 1x

Nüchternblutglukosewert (HemoCue) _____ mg/dl

*k.A. bedeutet keine Abnahme

Blutabnahme nach KE (P02)

Analysecodierung (Synlab) _____

Serum (9 ml für Synlab) k.A. 1x

EDTA-Plasma mit Gel (4,9 ml) k.A. 1x

Nüchternblutglukosewert (HemoCue) _____ mg/dl

Fettgewebsentnahme/Stuhlprobe

Fettgewebsbiopsie

Nüchtern/0h ja nein

Nach Kälteexposition ja nein

Stuhlprobe abgegeben? ja nein

Ernährungsprotokoll abgegeben? ja nein

Herzfrequenzdaten vorhanden? ja nein



■ Version vom 13.12.2016 ■



Teilnehmer Code

Anamnesebogen

- Gesundheit -

1) Ist bei Ihnen eine der folgenden Erkrankungen bekannt (Mehrfachnennungen möglich)?

Krebserkrankung	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>
Diabetes mellitus (1 oder 2)	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>
Bluthochdruck	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>
Erhöhte Blutfette/Fettstoffwechselstörung	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>
Herzinfarkt/Schlaganfall (KHK)	ja <input type="checkbox"/>	nein <input type="checkbox"/>

Sonstige: _____

2) Hatten Sie in den vergangenen 3 Monaten eine Operation?

ja nein

Wenn ja, welche?

3) Haben Sie in den vergangenen 6 Wochen Antibiotika zu sich genommen?

ja nein

Wenn ja, welche: _____



■ Version vom 13.12.2016 ■



Teilnehmer Code

4) Nehmen Sie regelmäßig Medikamente?

ja

nein

Wenn ja, bitte genaue Angaben!

Medikament/ Hersteller	Tägl. Dosis	Verabreichungs- form	Beginn	Ende	Krankheitsbild
Bsp: Ramipril Hexal (1,25 mg)	1 – 0 – 0	Tablette	01.01.12	-	Bluthochdruck

5) Nur für weibliche Teilnehmerinnen:

Verwenden Sie hormonelle Verhütungsmittel?

ja

nein

Wenn ja, welche? _____

Wie ist Ihr Zyklus?

Regelmäßig

Unregelmäßig

Menopause

Sonstiges* : _____

*z.B. Spirale, Gebärmutter entfernt, „hatte noch nie einen Zyklus“

In welcher Zyklushälfte* befinden Sie sich?

1.

2.

unklar

*Zur Orientierung: 2. Zyklushälfte beginnt etwa 14 Tage vor dem 1. Tag der neuen Monatsblutung

Wann war der 1. Tag der letzten Monatsblutung? |_|_|_|_|.|_|_|_|_|.|_|_|_|_|_|_|_|_|_|



■ Version vom 13.12.2016 ■



Teilnehmer Code

- Körperliche Aktivität/Lebensstil -

6) Hat sich Ihr Gewicht in den vergangenen 3 Monaten verändert?

- Nein, mein Gewicht war stabil (+/- 3 kg)
- Ja, ich habe abgenommen (> 3 kg) Ja, ich habe zugenommen (> 3 kg)

Bemerkung: _____

7) Wie viele Stunden haben Sie vergangene Nacht geschlafen? |__||__|,|__|h

8) Halten Sie eine spezielle Kostform/Ernährungsweise ein?

- nein vegetarisch/vegan
- Diät zur Gewichtskontrolle Sonstige _____

9) Wie oft treiben Sie im Winter Sport?

- Regelmäßig mehr als 2 Stunden in der Woche
- Regelmäßig 1 bis 2 Stunden in der Woche
- Weniger als 1 Stunde in der Woche
- Keine sportliche Betätigung im Winter

10) Wie oft treiben Sie im Sommer Sport?

- Regelmäßig mehr als 2 Stunden in der Woche
- Regelmäßig 1 bis 2 Stunden in der Woche
- Weniger als 1 Stunde in der Woche
- Keine sportliche Betätigung im Sommer



■ Version vom 13.12.2016 ■



Teilnehmer Code

11) Wie würden Sie Ihre Arbeit bzw. Ihre Hauptbeschäftigung einstufen?

- Als schwere körperliche Arbeit
- Als mittelschwere körperliche Arbeit
- Als leichte körperliche Arbeit
- Keine nennenswerte körperliche Arbeit

12) Welchen Schulabschluss habe Sie?

- Hauptschule
- Realschule
- Abitur
- Hochschulstudium

13) Welchen Beruf üben Sie aus? _____

14) Welchen Belastungen sind Sie am Arbeitsplatz ausgesetzt? (mehrere Antworten sind möglich)

- Keinen, ich bin mit meiner Tätigkeit sehr zufrieden
- schwere körperliche Arbeit
- Schichtarbeit
- Zeitdruck, Akkordarbeit
- Staub, Gase, Geruch, Chemikalien
- Lärm, Hitze, Kälte,
- ständiger Leistungsdruck, Stress
- einseitige Arbeitshaltung (ständiges Sitzen, ständiges Stehen etc.)
- Mehrfachbelastungen (Nebenberufe, Haushalt etc.)
- Monotonie, Langeweile, Unterforderung
- drohenden Arbeitsplatzverlust
- andere: _____

15) Wie viele Stunden am Tag arbeiten Sie an der frischen Luft? |__| |__|, |__| h

Bemerkungen



■ Version vom 13.12.2016 ■



7. Ernährungsprotokoll



3-Tage-Ernährungsprotokoll



Teilnehmer |__||__||__|

von: __ __ / __ __ / __ __ bis: __ __ / __ __ / __ __

Kontakt

M.Sc. Laura Mengel
Tel: 08161/71-2397
mailto: laura.mengel@tum.de

Teilnehmer |__|__|__|

Ernährungsprotokoll 1. Tag

Wochentag: _____

Datum: __ __ / __ __ / __ __

Frühstück / Zwischenmahlzeit:

Zeit / Ort	Menge	Lebensmittel/Getränk	Zubereitung

Mittagessen / Zwischenmahlzeit:

Zeit / Ort	Menge	Lebensmittel/Getränk	Zubereitung

Abendessen / Spätmahlzeit:

Zeit / Ort	Menge	Lebensmittel/Getränk	Zubereitung

Teilnehmer |__|__|__|

Ernährungsprotokoll 2. Tag

Wochentag: _____

Datum: __ __ / __ __ / __ __

Frühstück / Zwischenmahlzeit:

Zeit / Ort	Menge	Lebensmittel/Getränk	Zubereitung

Mittagessen / Zwischenmahlzeit:

Zeit / Ort	Menge	Lebensmittel/Getränk	Zubereitung

Abendessen / Spätmahlzeit:

Zeit / Ort	Menge	Lebensmittel/Getränk	Zubereitung

Seite 3 von 4

FREECE
30.03.2017

Teilnehmer |__|__|__|

Ernährungsprotokoll 3. Tag

Wochentag: _____

Datum: __ __ / __ __ / __ __

Frühstück / Zwischenmahlzeit:

Zeit / Ort	Menge	Lebensmittel/Getränk	Zubereitung

Mittagessen / Zwischenmahlzeit:

Zeit / Ort	Menge	Lebensmittel/Getränk	Zubereitung

Abendessen / Spätmahlzeit:

Zeit / Ort	Menge	Lebensmittel/Getränk	Zubereitung

8. Anleitung zum Ernährungsprotokoll

Teilnehmer |_|_|_|_|_|



Anleitung zum Ernährungsprotokoll

Sehr geehrter Studienteilnehmer,

das Ernährungsprotokoll soll Ihre individuellen Ernährungsgewohnheiten erfassen. Bitte beachten Sie daher folgende Hinweise:

- Füllen Sie das Ernährungsprotokoll möglichst genau und ehrlich aus
- Bitte ändern Sie während der Protokollführung Ihre Ernährungsgewohnheiten nicht.
- Bitte notieren Sie **alle** Lebensmittel und Getränke
- Tragen Sie auch Lebensmittel ein, die Sie im Restaurant, Mensa oder als Zwischenmahlzeit bzw. Snacks (z.B. Bonbons, ein Apfel) zu sich nehmen.
- Bitte notieren Sie auch Vitamin- und Mineralstoffpräparate.

In die **erste Spalte** tragen Sie bitte ein, **wann und wo** Sie die Mahlzeit zu sich genommen haben (z. B. zu Hause, in der Mensa, im Restaurant, unterwegs...).

In die **zweite Spalte** tragen Sie bitte genau ein, **wie viel** Sie von einem Lebensmittel verzehrt haben.

- Dies geschieht in „haushaltsüblichen Maßen“, z.B. geben Sie die Portionen in „Scheiben“, „Esslöffeln“ oder „Tassen“ bzw. „Bechern“ an.
- Versuchen Sie diese Mengenangaben so genau wie möglich zu machen (z.B. kleine, mittlere, große Portionen oder 200ml, 250ml Tasse/Becher/Glas oder dünn, dick bestrichenes Brot mit Konfitüre . . .)
- Wenn Angaben auf der Verpackung zu finden sind (z. B. bei Joghurt oder Fertiggerichten), ist es sinnvoll, diese anzugeben.
- Gerichte – wenn möglich – nach einzelnen Zutaten aufschlüsseln.

Die **dritte Spalte** soll die **genaue Bezeichnung des Lebensmittels** enthalten, z. B.:

- „Edamer, 40 % F.i.Tr.“ anstatt „Käse“,
- „Roggenmischbrot“ anstatt „Brot“ oder
- „Apfel, Boskop, geschält“ anstatt „Apfel“.

Teilnehmer |__|__|__|__|

- Wenn möglich, geben Sie bitte auch immer den Marken- oder Sortennamen an.

In der **vierten** Spalte tragen Sie bitte die **Zubereitungsart** des Essens ein. Die Zubereitungsart sollte möglichst genau beschrieben werden:

- bei Fleisch und Fisch: „paniert“ oder „gebraten in Rapsöl“
- bei Gemüse „in Olivenöl angebraten“ oder „gedünstet“

Angabe des Fettgehalts:

- Bei Milch- und Milchprodukten (Joghurt, Käse, Milch, usw.) in % Fett (z. B. Milch, 1,5 % Fett) oder % Fettgehalt i. Tr. (z. B. Camembert 60 % i. Tr.)
- Bei Fleisch- und Wurstwaren Einteilung in fett, mager, fettreduziert (z. B. „Schweineschinken mager, gekocht“ oder „Speck, durchwachsen“)

Angabe des Brat-, Salat- und Aufstrichfettes bezüglich Sorte und Menge:

- z. B. Butter, Sonnenblumenmargarine, Diätmargarine (Handelsnamen angeben)
- oder: Rapsöl, Olivenöl, Leinöl (Handelsnamen angeben)

Zubereitungsart:

- gekocht, gebraten, frittiert, gegrillt, gedünstet, gedämpft, überbacken, paniert, gebunden...

Nähere Beschreibung des Lebensmittels (Art, Sorte, Markenname usw.):

- Fleisch: von welchem Tier (Rind, Schwein, Huhn) und Stück (Brust, Filet, usw.)
- Wurst & Käse: z.B. Salami, Fleischwurst, Schinken (gekocht oder geräuchert) oder Camembert, Gouda, Mozzarella, Feta, Appenzeller, usw.
- Soße/Suppe: Bratensoße gebunden, Holländische Soße, Essig-Öl-Salatsoße, Joghurt dressing, Suppe mit Fleischeinlage, Cremesuppe, usw.
- Kuchen: Hefekuchen, Streuselkuchen, Sahnetorte, Obstkuchen (Mürbteig, Biskuit)
- Getränke: Unterscheidung von Saft und Nektar, Markennamen angeben, z.B. bei Bier

Angabe über die verwendeten Lebensmittel: frisch, Tiefkühlkost oder Konserven

- o Zum Beispiel bei Kompott oder Gemüse

Sollten Fragen oder Unsicherheiten auftreten, stehen wir Ihnen jederzeit gern zur Verfügung!

M.Sc. Laura Mengel

Tel: 08161/71-2397

mailto: laura.mengel@tum.de

9. Anleitung zum Sammeln von Stuhlproben zur Bestimmung der Bakterienzusammensetzung

Probanden-ID |_|_|_|_|_|



Anleitung zum Sammeln von Stuhlproben zur Bestimmung der Bakterienzusammensetzung

*Liebe Studienteilnehmerin,
lieber Studienteilnehmer,*

Sie haben sich zur Teilnahme an unserer Studie zum Ernährungsverhalten entschlossen. Das Untersuchungsprogramm dafür enthält viele unterschiedliche Tests. Für einen möglichst reibungslosen Ablauf und die Sicherstellung einer hohen Datenqualität, bitten wir Sie folgende Hinweise zu beachten:

Bitte entnehmen Sie die Stuhlprobe wenn möglich am Tag des Studienzentrumsbesuchs – möglichst vom ersten Stuhlgang!

Vorbereitung:

- Bitte befestigen Sie den beigefügten „Stuhlfänger“ wie auf dem Stuhlfänger beschrieben mit Hilfe der Klebeflächen an Ihrer Toilette und hängen ihn in die Toilettenschüssel.



Abb. 1a. Stuhlfänger



Abb. 1b. Stuhlsammelgefäß mit integriertem Löffel

- Stellen Sie die **Stuhlsammelgefäße** bereit. Am Verschluss der Gefäße ist ein Plastiklöffel angebracht, der für die Entnahme der Stuhlprobe verwendet werden soll.
 - ➔ Achtung eines der Stuhlröhrchen enthält eine Flüssigkeit (DNA-Stabilisator). Achten Sie darauf, dass die Flüssigkeit **nicht verschüttet** wird. Die Lösung ist „reizend“ (aber nicht giftig).
- Ziehen Sie jetzt die Einmalhandschuhe an.

Durchführung der Stuhlnahme:

- Der Stuhl darf **nicht** mit **Wasser, Urin, Blut bzw. anderen Materialien (z.B. Kloppapier)** in Berührung kommen.

Sollte sich die Stuhlprobe nicht auf dem Stuhlfänger befinden, sammeln Sie bitte keinen Stuhl aus der Toilettenschüssel!

Die Stuhlsammlung kann unter Verwendung des zweiten Stuhlfängers wiederholt werden.

- Geben Sie eine Stuhlprobe auf den Stuhlfänger ab.
- Pressen Sie sicherheitshalber beim Aufstehen von der Toilettenbrille die Enden des Stuhlfängers leicht auf den Sitz.
- Entnehmen Sie nach dem Stuhlgang mit dem in den Deckel integrierten Löffel **an zwei unterschiedlichen Stellen** jeweils eine Probe. Wenn der Stuhl hart ist, so versuchen Sie mehrere Stückchen zu entnehmen.
- Die Stuhlsammelgefäße nicht komplett befüllen, es genügt **ein** Löffel voll Stuhl.
- Schrauben Sie dann den Deckel (samt Löffel) wieder auf das Röhrchen und verschließen Sie es fest.
- Schütteln (leicht) Sie das geschlossene Röhrchen mit der Flüssigkeit ca. 10x.
- Bitte befüllen Sie beide Röhrchen.
- Falls nötig, säubern Sie bitte das Äußere der Stuhlsammelgefäße.
- Entfernen Sie den Stuhlfänger und werfen ihn in die Toilette.

Weitere Schritte:

- Verpacken Sie die Stuhlsammelgefäße in dem Schutzbeutel und legen diese in die Transportbox.



Abb. 1c. Schutzbeutel für das Stuhlsammelgefäß

Probanden-ID |_|_|_|_|_|

- Lagern Sie die Stuhlprobe in der Transportbox bitte bis zur Abgabe im Studienzentrum im Kühlschrank (bitte **nicht** einfrieren!)



Abb. 1d. Transport-Box

- Bitte füllen Sie direkt nach der Stuhlentnahme den mitgelieferten Fragebogen „Angaben zur Stuhlentnahme“ aus und falten diesen 2x.
- Bitte legen Sie den Fragebogen zu dem Stuhlentnahmeröhrchen in die Transportbox.
- Bringen Sie bitte die Transport-Box (mit Stuhlprobe und Fragebogen) zur nächsten Untersuchung mit und händigen Sie diese an die Untersucherin aus.

Sollten Fragen oder Unsicherheiten auftreten, stehen wir Ihnen jederzeit sehr gern zur Verfügung!

Laura Mengel, M.Sc. Mikrobiologie und Biochemie
Tel. 08161 71 2397
E-Mail: laura.mengel@tum.de

Angaben zur Stuhlentnahme

1) Haben Sie in den letzten 2 Monaten Antibiotika eingenommen?

Nein

Ja.

Wenn ja, welches Antibiotikum _____
Wann erfolgte die letzte Einnahme |_|_| |_|_| |_|_|
Tag Monat Jahr

2) Zeitpunkt der Stuhlentnahme:

Datum: |_|_| |_|_| |_|_| Uhrzeit: |_|_| : |_|_|
Tag Monat Jahr Std Min

3) Probleme bei der Stuhlsammlung:

Probanden-ID |_|_|_|_|_|_|

Nein

Ja.

Stuhlsammlung aus der Toilettenschüssel

(trotz 2 Stuhlfängern und Option des nachträglichen Versandes).

Sonstige: _____

4) Lagerung des gefüllten Röhrchens bis zum Transport ins Studienzentrum:

Im Kühlschrank (NICHT im Gefrierfach)

Falls dies leider nicht möglich sein sollte:

Bei Raumtemperatur (z. B. Zwischenlagerung bei der Arbeit) und
im Kühlschrank

Dauer der Lagerung bei Raumtemperatur |_|_| : |_|_|
Std Min

Bei Raumtemperatur

5) Beginn des Transports ans *enable*-Studienzentrum:

Datum: |_|_| |_|_| |_|_| Uhrzeit: |_|_| : |_|_|
Tag Monat Jahr Std Min

10. SOP Anweisungen für die Stuhl-Gewinnung

EKFZ-SOP: _____ Klinische Studieneinheit
 SOP Nr.: 2_028/0 Stand 18.04.2016

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.: 2/028
Seite: 1 von 3 Gültig ab: 13.03.2016 Revision: 0	Titel: Anweisungen für die Stuhl-Gewinnung
Autor: Rachel Rennekamp Datum: 09.12.2015 Geprüft von: Thomas Skurk Datum: <u>13.03.2016</u>	

Diese SOP beschreibt die Vorgehensweise und Handhabung des „Stuhl-Kits“

Inhaltsverzeichnis

1. Beschreibung Stuhl-Kit	1
2. Kontakt/Ansprechpartner	2
3. Aussagekraft	2
4. Zusammensetzung des Stuhl-Kits	2
5. Information des Probanden über die Stuhlgewinnung.....	2
6. Nach der Übergabe der Stuhlprobe	2
7. Einfrieren der Stuhlprobe	3
8. Verhalten bei Abweichungen	3
9. Literatur	3

1. Beschreibung Stuhl-Kit

- Süsse Post Box Slim (198x131x29 mm)
- Stuhlfänger MED AUXIL
- Süsse Schutzbeutel inkl. Saugelinge, flüssigkeitsdicht UN 3373 (150x250 mm)
- Probengefäß für Stuhl (70x24 mm) inkl. Stabilisierungslösung

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 3

- Probengefäß für Stuhl (70x24 mm) ohne Stabilisierungslösung

2. Kontakt/Ansprechpartner

Rachel Rennekamp
Tel. 08161/71-2384
rachel.rennkamp@tum.de

3. Aussagekraft

Mit Hilfe der Stuhlproben wird das Mikrobiom untersucht.

4. Zusammensetzung des Stuhl-Kits

Das Stuhl-Kit besteht aus einer Pappschachtel (Süsse Post Box) und darin enthalten sind 1 Entnahmeröhrchen inkl. DNA-Stabilisierungslösung und 1 Entnahmeröhrchen ohne Stabilisierungslösung, ein paar Einmalhandschuhe (Größe M), zwei Stuhlfänger sowie ein flüssigkeitsdichter Schutzbeutel inkl. Saugeinlage.

Zum Stuhl-Kit gehören ebenfalls eine „Anleitung zur Gewinnung einer Stuhlprobe“ sowie ein Fragebogen „Angaben zur Stuhlentnahme“.

Auf den Stuhlentnahmeröhrchen und dem Fragebogen wird die Probanden-ID geschrieben.

5. Information des Probanden über die Stuhlgewinnung

Der Proband erhält beim Aufklärungsgespräch das Stuhl-Kit inkl. Anleitung und Fragebogen ausgehändigt.

Es wird auf die Anleitung und das Ausfüllen des Fragebogens aufmerksam gemacht.

Es erfolgt eine kurze Einweisung in die Handhabung des Stuhl-Kits.

Es wird darauf hingewiesen, dass die Stuhlentnahmeröhrchen eine reizende, aber nicht toxische Lösung enthält, die ausschließlich zum Zweck der Stuhl-Stabilisierung einzusetzen ist.

Der Proband wird gebeten, die Stuhlprobe möglichst kurz vor der Visite 1 abzunehmen, im Kühlschrank aufzubewahren und das Stuhl-Kit sowie den ausgefüllten Fragebogen ins Studienzentrum mitzubringen und der Untersucher/-in zu übergeben.

Abschließend nachfragen, ob Fragen bestehen und nochmals der Hinweis darauf, dass eine Anleitung mitgegeben wird und dass bei Fragen angerufen werden kann.

Dem Probanden wird eine Telefonnummer für Rückfragen genannt.

6. Nach der Übergabe der Stuhlprobe

Nachdem der Proband das Stuhl-Kit an die Untersucher/-in übergeben hat, erfragt

diese/r den Namen des Probanden und gleicht die Zuordnung mit der Probanden-ID ab.
Die Abgabe der Stuhlprobe und des ausgefüllten Fragebogens wird dokumentiert (Macro).

Der Fragebogen wird auf Vollständigkeit überprüft.

Die Stuhlprobe wird bis zum Einfrieren im Kühlschrank aufbewahrt.

7. Einfrieren der Stuhlprobe

Die Stuhl-Probe wird in einer speziellen Box für Stuhlröhrchen bei -80 °C eingefroren.

Es gibt je eine Box für das Stuhlröhrchen mit DNA-Stabilisator und für das ohne Stabilisator.

8. Verhalten bei Abweichungen

Auch bei länger zurück liegender Stuhlentnahme kann die Probe aufgrund des DNA-Stabilisators für Analysen verwendet werden.

Hat der Proband das Stuhl-Kit zur Visite 1 zu Hause vergessen, wird er gebeten eine erneute Stuhlabnahme am Tag von Visite 2 durchzuführen. Eine neue Stuhl-Box wird dem Probanden ausgehändigt.

Hat der Proband das Stuhl-Kit oder einzelne Inhalte verloren, wird ihm ein neues Stuhl-Kit ausgehändigt.

Bei nicht erfolgter Befüllung wird nachgefragt, worin die Probleme bei der Stuhlgewinnung bestanden haben. Eine kurze Erklärung der unklaren Schritte sollte erfolgen und der Proband wird gebeten eine erneute Stuhlprobe bei Visite 2 mitzubringen.

9. Literatur

SOP Instructions for collection of stool sample von eldermet


SOP 24_BIOPROBEN-1: Verwendungszweck, Probandenvorbereitung, Probengewinnung der Kora-Studie, Helmholtz Zentrum München

II. SOP Messung der Körpergröße

EKFZ Standardarbeitsanweisung (SOP): Blutdruckmessung (RR)

Methode

SOP Nr.: 02 – 020

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.: 2 – 020/00
Seite: 1 von 2 Gültig ab: 01.02.2016 Revision: 0	Titel: Messung der Körpergröße Quelle: Core Domain Körperzusammensetzung, Kompetenznetz Adipositas
Autor: _____ Skurk _____	Datum: _____ 22.01.2016 _____
Geprüft von: _____	Datum: _____

Hintergrund:

Ebenso wie das Körpergewicht ist die Messung der Körpergröße sehr sorgfältig auszuführen, da sie mit dem Gewicht die Grundlage für die Einschätzung des Ernährungszustandes anhand des BMI bildet. Vor der Messung sollte das Stadiometer auf die richtige Aufstellung überprüft werden, insbesondere bei transportablen Geräten. Die Präzision sollte regelmäßig mit Hilfe eines Eichstabes kontrolliert werden.

Messablauf:

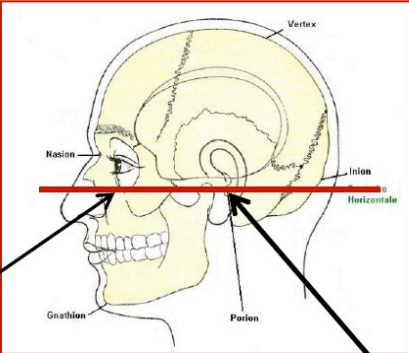

1. Der Untersucher klärt den Probanden über die Messung auf und bittet diesen, seine Schuhe auszuziehen sowie alle Arten von Haarschmuck, die über die Rückseite des Kopfes hinausreichen (z.B. große Haarspangen), abzulegen.
2. Der Proband wird gebeten, sich in aufrechter Haltung und Blick nach geradeaus vorn mit dem Rücken gegen die Messleiste des Stadiometers zu stellen, so dass Fersen, Waden, Gesäß, Rücken und Hinterkopf möglichst das Stadiometer berühren; die Fersen stehen dabei aneinander.
3. Der Untersucher überprüft die Haltung des Probanden. Der Augenhöhlen-Unterrand (Boden der Orbita) und der obere Rand der Ohröffnung (meatus acusticus externus) müssen sich auf einer waagerechten Ebene befinden (Frankfurter Ebene, siehe Abbildung). Korrekturen der Kopfhaltung werden vom Untersucher durch Anlegen der Hände und Drehen des Kopfes in die richtige Position vorgenommen.

Abbildung nächste Seite: Frankfurter Ebene

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 2

Frankfurter Ebene



Orbita boden **Meatus accusticus externus**

4. Der gemessene Wert wird auf 0,5 cm genau abgelesen und in das Protokoll eingetragen. Im besten Fall wird 3mal gemessen, der Mittelwert gibt das endgültige Ergebnis. Bei älteren Probanden sollte zusätzlich die früher erreichte Größe erfragt werden. In der geriatrischen Praxis kann die Körpergröße bei bettlägerigen Patienten auch über die Kniehöhe anhand spezifischer Formeln berechnet werden (Müller, 2007). Referenzwerte für die Körpergröße deutscher Kinder und Jugendlicher basierend auf den Daten des Kinder- und Jugendgesundheitsveys (KiGGS) hat das Robert-Koch-Institut veröffentlicht (Referenzperzentile für anthropometrische Maßzahlen und Blutdruck aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS) 2003 – 2006, page 13 ff). Basierend auf dem Bundesgesundheitsurvey 1998 (Mensink et al., 2002) oder der Nationalen Verzehrsstudie II (Hemmelmann et al., 2010) wurden Referenzperzentilen für den BMI deutscher Erwachsener erstellt.

Literatur:
Hemmelmann C, Brose S, Vens M, Hebebrand J, Ziegler A. Perzentilen des Body-Mass-Index auch für 18- bis 80-Jährige? Daten der Nationalen Verzehrsstudie II. Dtsch Med Wochenschr 2010; 135(17): 848-852 PMID: 20408102
Mensink GB, Burger M, Beitz R, Henschel Y, Hintzpeter B. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Was essen wir heute? Robert-Koch-Institut, 2002, Seite 130;
http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadB/was_essen_wir_heute.pdf?__blob=publicationFile
Müller MJ. Ernährungsmedizinische Praxis. Springer Verlag Heidelberg, 2007
Robert Koch Institut. Referenzperzentile für anthropometrische Maßzahlen und Blutdruck aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS) 2003 – 2006, page 13 ff
http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadB/KiGGS_Referenzperzentile.pdf?__blob=publicationFile

12. SOP Taillen-Hüftumfang

EKFZ-SOP: Messung der Körperzusammensetzung mittels BOD POD Klinische Studieneinheit

Stand 14.03.2016

SOP Nr.: 02_0027/01

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.: 02/027
Seite: 1 von 3 Gültig ab: 14.03.2016 Revision: 0	Titel: Taillen-Hüftumfang
Autor: Beate Ott	Datum: 14.03.2016
Geprüft von: Dr. Thomas Skurk	Datum: 14.03.2016

Diese SOP beschreibt die Vorgehensweise der Messung des Taillen-Hüftumfanges

Inhaltsverzeichnis

1.	Material.....	1
2.	Ansprechpartner.....	2
3.	Aussagekraft.....	2
4.	Hintergrund und Messprinzip.....	2
5.	Testvorbereitung.....	2
6.	Messung des Taillen-Hüftumfanges.....	2
7.	Messung des Hüftumfanges.....	2
8.	Auswertung.....	3
9.	Literatur.....	3

Gelöscht

1. Material

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 3

Seca Umfangsmaßband

2. Ansprechpartner

Institut für Ernährungsmedizin
PD Dr. Thomas Skurk
Tel.: +49 (0) 8161 71 2007
skurk@tum.de

3. Aussagekraft

Mit Hilfe des Taillen-Hüft-Umfangs wird die Fettverteilung gemessen.

4. Hintergrund und Messprinzip

Neben der Bestimmung der gesamten Körpermasse, der Fettmasse und der fettfreien Masse, ist die Messung des Taillen-Hüft-Umfangs ein geeignetes Maß zur Bestimmung der Fettverteilung. Eine abdominale Fettverteilung ist mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen und erhöhter Freisetzung von freien Fettsäuren, Fettstoffwechselstörungen und Insulinresistenz eng assoziiert.

5. Testvorbereitung

- o Der Proband entkleidet sich bis auf die Unterwäsche.

6. Messung des Taillen-Hüftumfangs

- o Die Messung des Taillenumfangs wird im Stehen durchgeführt.
- o Die Messung findet direkt auf der Haut statt und nicht über der Kleidung.
- o Der Proband steht aufrecht vor dem Untersuchenden.
- o Bei der Messung soll der Bauch entspannt sein, die Arme liegen an den Seiten an, die sind möglichst geschlossen zu halten.
- o Während der Messung atmet der Proband normal und gleichmäßig ein und aus.
- o Die Messung des Taillenumfangs erfolgt horizontal auf halber Höhe zwischen dem untersten Rippenbogen und der Spitze des Hüftknochens. Der Messwert wird auf 0,1 cm genau abgelesen.

7. Messung des Hüftumfangs

- o Die Messung des Hüftumfangs wird im Stehen durchgeführt.

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 2 von 3

- o Die Messung findet direkt auf der Haut statt und nicht über der Kleidung.
- o Der Proband steht aufrecht neben dem Untersuchenden.
- o Die Messung des Hüftumfangs erfolgt horizontal in Höhe des maximalen Gesäßumfangs. Der Messwert wird auf 0,1 cm genau abgelesen.

8. Auswertung

Eine abdominale Adipositas liegt bei einem Taillenumfang >88cm bei Frauen bzw. >102 cm bei Männern vor.

- o Der Taillen-Hüft-Umfang wird wie folgt berechnet

$$\frac{\text{Taillenumfang [cm]}}{\text{Hüftumfang [cm]}}$$

9. Literatur

WHO STEPwise approach to surveillance (STEPS). Geneva, World Health Organization (WHO), 2008b


13. SOP Bioimpedanzanalyse (BIA) mittels Tanita BC 418 MA

EKFZ-SOP: Bioimpedanzanalyse (BIA)_Tanita

Methode

Stand 26.01.2016

SOP Nr.: 02-006/02

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.: 2-006/02
Seite: 1 von 4 Gültig ab: 01.10.2015 Revision: 2	Titel: Bioimpedanzanalyse (BIA) mittels Tanita BC 418 MA
Autor: _____ Petzold, Rennekamp _____	Datum: _____ Januar 2016 _____
Geprüft von: _____ Skurk _____	Datum: _____ Januar 2016 _____

Diese SOP beschreibt die Bestimmung der Körperzusammensetzung mit der Segment-Körperanalysewaage Tanita BC 418 MA.

Inhaltsverzeichnis

1. Geräte-/Hersteller/Ansprechpartner	2
2. Messprinzip	2
3. Vorbereitung der Messung	2
4. Voraussetzungen	2
5. Einstellung des Gerätes	3
5.1 Anzahl der Ausdrücke festlegen	3
5.2 Sprachauswahl	3
5.3 Ausgedruckte Daten festlegen	3
6. Durchführung der Messung	3
6.1 Gewicht der Kleidung- („Pt“)	3
6.2 Körpertyp	3
6.3 Alter	3
6.4 Körpergröße	3
7. Messung Körpergewicht	4

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 5

8. Messung Körperzusammensetzung	4
9. Ende der Messung	4
10. Literatur	4
11. Fehlermeldungen	4
12. Verbrauchsmaterial	4

1. Geräte-/Hersteller/Ansprechpartner

BC 418 MA Segment-Körperanalysewaage von Tanita T5896, Serial# 12050088 2012
 Tanita Online GmbH
 Martin-Kollar-Str. 5
 D-81829 München

Herman Widerhold
 Mobile: +49 (0) 171 8602913
 Fon: +49 (0) 89 30 90 45 61 24
 Fax: +49 (0) 89 30 90 45 61 29
Herman.Widerhold@Tanitaonline.de

2. Messprinzip

Die Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) ist eine Methode zur Messung der Körperzusammensetzung. Durch eine Dauerstromquelle fließt der elektrische Strom über die Zehenspitzen beider Füße und den Fingerspitzen in den Körper. Die Spannung wird an beiden Fußballen und Daumenballen gemessen. Strom kann ungehindert durch das in den Muskeln enthaltene Wasser fließen, Fett jedoch bildet einen elektrischen Widerstand. Der Prozentsatz von Fett und anderer Körpermaße lässt sich aus dem Widerstand herleiten.

3. Vorbereitung der Messung

- Wiegeplattform auf einer horizontalen und stabilen Unterlage aufsitzen lassen (Über die vorderen Standfüße ins Wasser bringen)
- Nur den vorgeschriebene Netzadapter (SA25-0535U) verwenden
- Nicht in Mehrfachsteckdosen einstecken
- Nach jeder Messung Wiegeplattform desinfizieren, da die Analysewaage mit bloßen Füßen betreten wird. Dabei keine Flüssigkeiten direkt auf die Wiegeplattform geben – Desinfektionsmittel-(Ethanol) getränktes Tuch verwenden! Handelektroden vor Fußelektroden desinfizieren!

4. Voraussetzungen

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

- o Patient nüchtern (10 bis 12 Stunden), die Blase muss vor der Messung entleert werden.
- o keine übermäßige sportliche Aktivitäten am Abend vor der Messung und direkt vor der Messung (nicht mit dem Fahrrad zur Untersuchung kommen)
- o Messung in leichter Straßenbekleidung ohne Schlüssel, Geldbörse etc.
Keine Messung bei Schwangeren oder Trägern von Herzschrittmachern

5. Einstellung des Gerätes

5.1 Anzahl der Ausdrücke festlegen

- o [0]-Taste gedrückt halten und gleichzeitig die „on“ Taste drücken bis „Prt-1“ blinkt
- o Eingabe der gewünschten Anzahl an Ausdrucken

5.2 Sprachauswahl

- o „Lng“ blinkt → Eingabe der gewünschten Sprache mittels Zifferntaste ([1]: Englisch, [2]: Französisch, [3]: Deutsch, [4]: Italienisch, [5]: Spanisch)
- o Wurde unter 1) „0“ gewählt, ist keine Sprachauswahl möglich

5.3 Ausgedruckte Daten festlegen

- o In der Anzeige erscheint „SPEC“
- o Der Druckinhalt wird mit den Zifferntasten gewählt: [0]: Kurz, [1]: Lang
kurz = Ausdruck der Körpertypdaten (Gewicht, Größe, BMI) und die Körperzusammensetzung
lang = Messdaten zusätzlich für jedes Körperteil (einzelne Arme, Beine, Rumpf)

6. Durchführung der Messung

Gerät einschalten mit der „on“-Taste - „Pt“ blinkt und 0.0 erscheint

6.1 Gewicht der Kleidung- („Pt“)

- o Abzug 0 kg! Korrektur erfolgt anschließend
- o Eingabe über das Zahlenfeld als [0] [.] [0]

6.2 Körpertyp

- o Eingabe Standardtyp männl./weibl. (ab 10h/Woche Ausdauersport „athletic“ eingeben, sonst „standard“.)

6.3 Alter

- o Eingabe in Jahren über das Zahlenfeld

6.4 Körpergröße

- o Eingabe in cm über das Zahlenfeld

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

7. Messung Körpergewicht

- „step on“ blinkt
- aufrecht und mit sauberen, trockenen bloßen Füßen mittig auf die Elektroden stellen
- Oberschenkelinnenseiten sollten sich nicht berühren, Arme nicht am Körper anlegen, evtl. Kissen/Decke/Styropor zwischen die Beine klemmen

8. Messung Körperzusammensetzung

- „stabilized“ blinkt
- Handelektroden rechts und links aufnehmen und Arme entspannt am Körper hängen lassen, aber nicht am Körper anliegen lassen
- Messung dauert einige Sekunden und endet mit der Anzeige des Körperfettanteils
- Elektroden wieder einhängen und von der Waage steigen

9. Ende der Messung

- Ausdruck der Ergebnisse erfolgt automatisch
- Anzahl und Länge der Ausdrücke je nach Voreinstellung (s. 4.1 und 4.3)
- Desinfektion der Elektroden mit einem Ethylalkohol getränkten Tuch (keine Flüssigkeiten direkt auf die Wiegeplattform)

10. Literatur

- Handbuch Tanita BC 418 MA Segment-Körperanalysewaage
- SOP Bioimpedanzanalyse Nr.: 3-003/01 vom 01.04.2008 (EKFZ)

11. Fehlermeldungen

- Bei Anzeige von „E01“ ist der Kontakt zwischen Fußsohlen und Elektroden nicht optimal. Ein Grund kann eine zu trockene Hornhaut sein. Beheben lässt sich das Problem durch Anfeuchten der Elektroden mit etwas Wasser. Dadurch wird die Leitfähigkeit erhöht.
- Während der Messung sollten keine Mobiltelefone benutzt werden
- Erscheint auf dem Ausdruck ein roter Streifen, sollte die Papierrolle ausgewechselt werden. Hierfür ist spezielles Thermopapier erforderlich.

12. Verbrauchsmaterial

- Thermorollen #

z.B. über <http://www.weightcheckersshop.com/de/tanita-thermopapierrollen> (5,36€, Art.Nr. ZZ3200Z003)

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

im größeren Gebinde auch über:

<http://www.oberland.com/de/Verbrauchsmaterial/Bonrollen/Thermopapier?gclid=Cj0KEQjwgeuuBRCiwpD0hP3Cg4kBEiQAHfm1mlAAB1NdelsXT-evK87NslB2hSAfuzE45TdMSaehalaAmwe8P8HAQ> (50 Stück ca. 1 €/Stück)


14. SOP Bioimpedanzanalyse (BIA) Seca mBCA 515

SOP: Bioimpedanzanalyse (BIA)_Seca

Methode

Stand 13.04.2016

SOP Nr.: 02-022

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.: 2-022
Seite: 1 von 4 Gültig ab: 01.10.2015 Revision: 0	Titel: Bioimpedanzanalyse (BIA) Seca mBCA 515
Autor: <u>Petzold, Rachel Rennekamp, Anne Gingrich</u> Datum: 14.03.2016 Geprüft von: <u>Skurk</u> Datum: 14.03.2016	

Diese SOP beschreibt die Bestimmung der Körperzusammensetzung mit der Seca mBCA 515.

Inhaltsverzeichnis

1. Gerätename/Hersteller/Ansprechpartner	2
2. Messprinzip.....	2
3. Voraussetzungen.....	2
4. Messung mit der Seca mBCA 515	2
4.1 Einstellung des Gerätes	2
4.2 Anlegen einer Probandenakte am PC	3
4.3 Messung Körpergewicht	3
4.4 Eingabe der Körpergröße und Ermittlung BMI	3
4.5 Messung Körperzusammensetzung	3
4.5.1 Modulauswahl.....	4
4.5.2 Positionierung des Probanden	4
4.5.3 Taillenumfang eingeben.....	5
4.5.4 Auswertung der Messergebnisse	5
4.6 Ende der Messung	5
5. Literatur	6
6. Verbrauchsmaterial	6

Diese SOP ist Eigentum des „enable“-Clusters und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 6

1. Geräte-/Hersteller-/Ansprechpartner

Seca mBCA 515, Medizinischer Body Composition Analyser zur Ermittlung der Körperzusammensetzung

Seca GmbH & Co KG

Hammer Stindamm 9-25

D-22089 Hamburg

Klaus-Johannes Möller

Telefon +49 40 20 00 00 187

Fax +49 40 20 00 00 3187

Mobil +49 172 21 25 252

E-Mail klaus-johannes.moeller@seca.com

2. Messprinzip

Die Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) ist eine Methode zur Messung der Körperzusammensetzung. Durch eine Dauerstromquelle fließt der elektrische Strom über die Zehenspitzen beider Füße und die Fingerspitzen in den Körper. Die Spannung wird an beiden Fußballen und Daumenballen gemessen.

Strom kann ungehindert durch das in den Muskeln enthaltene Wasser fließen, Fett jedoch bildet einen elektrischen Widerstand. Der Prozentsatz von Fett und anderen Körperkompartimente lässt sich aus dem Widerstand herleiten.

3. Voraussetzungen

- o Patient nüchtern (10 bis 12 Stunden), die Blase muss vor der Messung entleert werden.
- o keine übermäßige sportliche Aktivität am Abend vor der Messung und direkt vor der Messung (nicht mit dem Fahrrad zur Untersuchung kommen)
- o Messung in leichter Straßenbekleidung ohne Schlüssel, Geldbörse etc.
- o **keine Messung bei Schwangeren oder Trägern von Herzschrittmachern**

enable: Gemessen wird in Unterwäsche

4. Messung mit der Seca mBCA 515**4.1 Einstellung des Gerätes**

- o Das Gerät führt nach dem Einschalten durch die Ein/Aus-Taste einen Selbsttest durch, welcher einige Sekunden dauern kann.

Diese SOP ist Eigentum des „enable“-Clusters und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

- o Die Wiegefunktion steht zur Verfügung, wenn die Ein/Aus-Taste dauerhaft weiß leuchtet und der Reiter „Gewicht/Größe“ im Display angezeigt wird.
- o Auf den Reiter „Bia“ tippen.
- o Die Bioimpedanzanalyse steht zur Verfügung, wenn die Meldung „Selbsttest aktiv“ nicht mehr angezeigt wird und das Dialogfenster „Modulauswahl“ erscheint.

4.2 Anlegen einer Probandenakte am PC

- o Seca analytics Software starten.
- o Benutzername und Passwort eingeben
- o Auf „anlegen“ klicken.
- o Folgende Probandendaten müssen eingegeben werden:
 - Patienten-ID
 - Geburtsdatum
 - Geschlecht
 - Ethnie
- o „speichern“ klicken, danach „schließen“
- o Den Probanden anwählen und „an mBCA senden“ klicken, dann „Patientenakte senden“ klicken.
- o An der Seca mBCA 515 „bestätigen“ und „weiter“ klicken.
- o „Gewicht/Größe“ auswählen.

4.3 Messung Körpergewicht

- o Der Proband betritt die Waage barfuß.
- o Die Gewichtsanzeige blinkt.
- o Wenn die Gewichtsanzeige und der Holdwert nicht mehr blinken, kann das Messergebnis abgelesen werden.

4.4 Eingabe der Körpergröße und Ermittlung BMI

- o Der Reiter „Gewicht/Größe“ muss aktiv sein.
- o Auf Das Feld „Größe“ tippen und die Größe des Probanden in das Zahlenfeld eintippen. Mit „Enter“ bestätigen.
- o Nach Bestimmung des Körpergewichts und Eingabe der Körpergröße wird der BMI automatisch berechnet und angezeigt.

4.5 Messung Körperzusammensetzung

Diese SOP ist Eigentum des „enable“-Clusters und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

4.5.1 Modulauswahl

- o Den Reiter „Bia“ aktivieren.
- o Das Feld Modulauswahl erscheint und die Module können einzeln ausgewählt oder deaktiviert werden (s.Tabelle).

Auswertemodul	Einstellung	Auswirkung ^a
Energie	aktiviert	Physical Activity Level (PAL) wird abgefragt.
	deaktiviert	Keine Abfrage des PAL
Gesundheitsrisiko	aktiviert	Taillenumfang (WC) wird abgefragt.
	deaktiviert	Keine Abfrage des WC
Impedanzrohdaten	aktiviert	Messdauer: max. 75 sec. Impedanzrohdaten für 19 Frequenzen verfügbar.
	deaktiviert	Messdauer: max 17 sec.

^a Abfrage PAL und WC im Dialogfenster „Modulspezifische Eingaben“. Dialogfenster wird übersprungen, wenn die Auswertemodule „Energie“ und „Gesundheitsrisiko“ deaktiviert sind.

- o Module „Flüssigkeit“, „Entwicklung/Wachstum“, „Gesundheitsrisiko“ und „Impedanzrohdaten“ wählen
- o Nach Auswahl der Module auf „weiter“ tippen.
- o Abfrage, ob der Proband zu einer Personengruppe gehört, bei der keine BIA durchgeführt werden darf: „nein“ drücken.

4.5.2 Positionierung des Probanden

- o Das Dialogfenster zur Positionierung des Probanden erscheint.

Prüfpunkt	Merkmale
Hände	<ul style="list-style-type: none"> • Hände müssen sauber sein. Ringe sollten, wenn möglich, abgelegt werden (bei älteren Menschen häufig schwierig). • Links und rechts gleiches Handelektrodenpaar. • Handelektrodenpaar so wählen, dass Arme ausgestreckt, aber nicht angespannt sind. • Fingertrenner der Handelektroden auf beiden Seiten zwischen Mittelfinger und Ringfinger. • Es darf kein Kontakt zwischen Oberkörper und Oberarmen bestehen.

Diese SOP ist Eigentum des „enable“-Clusters und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Füße	<ul style="list-style-type: none"> • Gerät barfuß betreten. • Füße müssen sauber sein. • Fersen auf die hinteren Fußelektroden. • Fußballen auf die vorderen Fußelektroden.
Haltung	<ul style="list-style-type: none"> • Aufrechte Haltung. • Knie leicht gebeugt. • Oberschenkel sollen sich nicht berühren. • Während der Messung nicht bewegen.

o Hat der Proband keinen korrekten Kontakt zu einem Elektrodenpaar, ist der entsprechende Elektrodenindikator auf dem Display rot, ansonsten erscheint er grün.

o Die Wahl der Handelektrode beeinflusst die Messung. Die Wahl des Probanden notieren, damit bei einer späteren Messung dieselbe Elektrode benutzt wird.

o Sobald alle Elektrodenindikatoren auf dem Display grün sind, erscheint ein Countdown bis zum Messbeginn.

o Die Messung beginnt automatisch und die Restdauer (ca. 75 Sekunden) bis zum Messende wird angezeigt.

4.5.3 Taillenumfang eingeben

o Sobald die Messung beendet ist, erscheint die Meldung „Messung beendet“.

o Mit der „weiter“ Taste wird das Dialogfenster „Modulspezifische Eingaben“ angezeigt und dort muss der Taillenumfang des Probanden eingegeben werden (nur wenn das Auswertemodul „Gesundheitsrisiko“ aktiviert ist).

o Das Eingabefeld für den Taillenumfang antippen und im Ziffernblock den Taillenumfang des Probanden eintragen, danach Enter drücken.

o Über „bestätigen“ speichern.

4.5.4 Auswertung der Messergebnisse

o Das Dialogfenster „Untersuchungsergebnisse“ erscheint und die Ergebnisse für das erste Auswertemodul werden angezeigt.

o Für eine grafische Auswertung der einzelnen Ergebnisse auf das entsprechende Auswahldreieck tippen.

o Für die Ergebnisse der anderen gewählten Module, das Dropdown-Menü antippen und das entsprechende Auswertemodul auswählen.

4.6 Ende der Messung

o Auf „speichern“ klicken und die Messwerte werden unter der angemeldeten Probandenakte gespeichert.

Diese SOP ist Eigentum des „enable“-Clusters und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

- Über die Taste „drucken“ kann der Ergebnisbericht ausgedruckt werden.
- Am PC auf „Untersuchungsergebnisse“ klicken und die Messergebnisse werden angezeigt. Auf „drucken“ klicken und mit „ok“ bestätigen. Das PDF wird geöffnet und kann abgespeichert werden.
- Die Daten als Excel-Datei speichern unter „Datei“ → „CSV-Export“ → „Ergebnisse auswählen“ → „ok“
- Wenn 5 min keine Eingabe erfolgt, schaltet das Gerät automatisch in einen standby Modus und die aktuelle Messung wird verworfen.
- **Speichern unmittelbar nach dem Messvorgang notwendig!**
- Standby Modus durch kurzes Drücken der Ein/Aus-Taste (leuchtet grün).
- Ausschalten durch längeres Drücken der Ein/Aus-Taste (LED erlischt).

5. Literatur

- Seca 515/514 Gebrauchsanweisung für Ärzte und Assistenz (Software-Version 1.1)

6. Verbrauchsmaterial

- Alkoholfreies Desinfektionsmittel und Haushaltspapier zum Reinigen nach jeder Messung (nicht zu feucht, da Gerät sonst Schaden nimmt)


15. SOP Elektronische Messung des systolischen und diastolischen Blutdrucks (RR)

EKFZ Standardarbeitsanweisung (SOP): Blutdruckmessung (RR)

Methode

Stand: 13.04.2016

SOP Nr.: 02 - 007

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.: 2 – 007/01
Seite: 1 von 4 Gültig ab: 01.10.2015 Revision: 1	Titel: Elektronische Messung des systolischen und diastolischen Blutdrucks (RR)
Autor: <u>Lee</u>	Datum: <u>14.03.2016</u>
Geprüft von: <u>Skurk</u>	Datum: <u>14.03.2016</u>

<p>Gliederung:</p> <ul style="list-style-type: none">• Hintergrund• Verwendete Geräte• Vorbereitung• Durchführung der Messung• Literatur <p>Hintergrund: Die korrekte Messung des Blutdrucks ist eine notwendige Voraussetzung für die richtige Diagnose eines arteriellen Hypertonus. Hypertonie ist die häufigste Herz-Kreislaufkrankung, die wesentlich zur kardiovaskulären Mortalität in der Bevölkerung beiträgt.</p> <p>Verwendete Geräte: Blutdruckmessgerät M8 comfort/M 300 von omron</p> <p>Kontakt: OMRON Medizintechnik GmbH Gottlieb-Daimler-Str. 10 68165 Mannheim Deutschland Kundendienst 0621 / 833 48 - 0. Technischen Kundendienst 0621 / 833 48 - 88. kontakt@eu.omron.com</p> <p>Vorbereitung/Testdurchführung: Der Proband/Patient muss vor der Messung mindestens 5 Minuten ruhig sitzen.</p>
--

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 2

Anschließend wird durch Messen des Oberarmumfangs die benötigte Manschette nach folgender Tabelle bestimmt (ggf. Herstellerangaben beachten!). Das M8 comfort/M300 ist für einen Oberarmumfang von 22-42 cm vorgesehen. Bei Oberarmumfängen außerhalb dieses Bereiches muss der Blutdruck manuell mit dem Messgerät von Welch-Allyn bestimmt werden. Dazu ist folgende Tabelle zu beachten (Werte jedoch Hersteller abhängig).

Art der Manschette	Oberarmumfang
Große Manschette	> 34 cm
„Normale“ Manschette	29-42 cm
kleine Manschette	< 29 cm

- Die Messung wird dann am ruhenden Patienten 3x im Abstand von jeweils mind. 3 Minuten durchgeführt (Deutsche Gesellschaft für Hypertonie)
- Manschette muss am Oberarm fest anliegen, aber darf vor dem Aufpumpen keinen Druck auf Arterie ausüben, aufblasbarer Teil an der Innenseite des Messarmes
- Erstmessung an beiden Armen, bei Feststellen von Seitendifferenzen (sys. >10 mmHg) weitere Messungen am Arm mit dem höheren BD. In der Regel messen Rechtshänder am linken, Linkshänder am rechten Arm (nicht dominanter Arm)
- Blutdruckmesspunkt muss immer in Herzhöhe liegen (bei Anspannung des Armes kann BD bis zu 10 mmHg höher sein)
- Messung ohne beengende Kleidung vornehmen, auch Ärmel nicht nach oben schieben (venöser Rückstrom im Arm wird dadurch behindert; Venenstauung erhöht den BD).
- Durch Betätigung der Start-Taste beginnt die Messung automatisch
- Die Beine dürfen nicht übereinander geschlagen werden

Fehler bei der Blutdruckmessung:

- Manschette zu schmal / zu locker → zu hoher BD (je nach Umfang bis zu 20 mmHg zu hoch)
- Manschette zu breit → zu niedriger BD
- Ellenbeuge unter Herzhöhe → zu hoher BD (z.B. im Liegen)
- Ellenbeuge über Herzhöhe → zu niedriger BD (z.B. im Liegen)
- Manschette über der Kleidung → unzuverlässiger BD
- Oberarm durch enge Kleidung eingeschränkt → unzuverlässiger BD

Wartung:

Gemäß § 24 Medizinproduktegesetz muss das Blutdruckmessgerät alle 2 Jahre einer messtechnischen Kontrolle unterzogen werden.

16. SOP Messung der Blutsauerstoffsättigung und des Herzschlags mittels Pulsoximeters

EKFZ-SOP: Messung der Blutsauerstoffsättigung und des Herzschlags Klinische Studieneinheit

Stand 10.10.2016

SOP Nr.:

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.:
Seite: 1 von 4 Gültig ab: Revision:	Titel: Messung der Blutsauerstoffsättigung und des Herzschlags mittels Pulsoximeters
Autor: <u>Laura Mengel</u>	Datum: <u>Oktober 2016</u>
Geprüft von: _____	Datum: _____

Diese SOP beschreibt die Vorgehensweise und Handhabung der des Pulsoximeters PULOX PO-300 zur Messung der Sauerstoffsättigung und des Herzschlags.

Inhaltsverzeichnis

1.	Gerätebeschreibung	2
2.	Kontakt/Ansprechpartner	2
3.	Messprinzip	2
4.	Testbedingungen/Voraussetzungen	2
5.	Inbetriebnahme & Vorbereitung.....	2
6.	Auslesen der Daten nach beendigter Messung.....	3
7.	Reinigung/Pflege & Desinfektion	3
8.	Literatur.....	3

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 3

SOP Nr.:

1. Gerätebeschreibung

PULOX PO-300 Pulsoximeter mit USB-Daten-Kabel und Software

2. Kontakt/Ansprechpartner

Novidion GmbH
Fuggerstr. 30 • 51149 Köln
Tel.: +49 (0) 2203 / 9885 200
Fax: +49 (0) 2203 / 9885 206
www.pulox.de • Mail: info@novidion.de

Institut für Ernährungsmedizin
PD Dr. Thomas Skurk
Tel.: +49 (0) 8161 71 2007
skurk@tum.de

M.Sc. Laura Mengel
Tel.: +49 (0) 8161 71 2397
laura.mengel@tum.de

3. Messprinzip

Das PULOX Pulsoximeter PO-300 dient zur Messung der arteriellen Sauerstoffsättigung (SpO₂) und der Herzfrequenz (Pulsfrequenz). Die Sauerstoffsättigung gibt an, wie viel Prozent des Hämoglobins im arteriellen Blut mit Sauerstoff beladen sind. Daher ist sie ein wichtiger Parameter für die Beurteilung der Atemfunktion. Das Pulsoximeter verwendet zur Messung zwei Lichtstrahlen unterschiedlicher Wellenlängen, die im Gehäuseinneren auf den eingelegten Finger treffen.

4. Testbedingungen/Voraussetzungen

- o Das Gerät ist nicht für Kleinkinder geeignet, da deren Finger zu klein für das Gerät sind
- o Nicht während einer Blutdruckmessung verwenden
- o Die Fingernägel dürfen nicht zu lang sein.

5. Inbetriebnahme & VorbereitungEinmalige kurze Messung:

- o Legen Sie den Finger in die Fingeröffnung des Pulsoximeters (Fingernagel zeigt zum Display des Gerätes)
- o Drücken Sie lange auf die Funktionstaste, um das Pulsoximeter einzuschalten
- o Das Pulsoximeter beginnt zu messen. Der Proband sollte den Arm während der Messung ruhig halten.
- o Das Ergebnis wird auf dem Pulsoximeter angezeigt.

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 2 von 3

SOP Nr.:


- o Sobald der Finger aus dem Pulsoximeter genommen wird, schaltet sich das Gerät nach ca. 5 Sekunden automatisch aus.
- Aufzeichnen der Daten über längeren Zeitraum:
- o Das Pulsoximeter wird wie oben beschrieben angelegt
 - o Drücken Sie im Hauptmenü die Funktionstaste mehrmals kurz, bis sich der Auswahlbalken auf „Record“ bewegt hat.
 - o Drücken Sie nun die Funktionstaste lange und Sie werden nach der aktuellen Aufnahmezeit gefragt (Einstellen, oder notieren, ab wann die Messung begonnen hat)
 - o Sobald Sie die Startzeit der Aufnahme eingestellt haben, bewegen Sie den Auswahlstrich mit kurzem Drücken unter das „Y“ (Ja) und drücken Sie die Funktionstaste wieder lange.
 - o Im Hauptmenü erscheint nun auf der rechten Seite neben „Record“ der Begriff „On“. Nun wird Ihre Messung aufgenommen und der Bildschirm zeigt REC an.
 - o Nach ungefähr 30 Sekunden zeigt der Bildschirm Recording an und fährt in den Stromsparmodus. Die Aufnahme läuft im Hintergrund weiter.
- 6. Auslesen der Daten nach beendigter Messung**
- o Nach Beendigung der Messung wird das Oximeter vom Finger entfernt.
 - o Öffnen Sie am PC das Programm SpO2 Review (grünes Herz).
 - o Verbinden Sie das Oximeter mit dem mitgelieferten USB-Kabel mit dem Computer
 - o Klicken Sie im Programm auf „keine Auswahl“.
 - o In der Software erscheint nun der Hinweis: „Warte auf Daten...“.
 - o Gehen Sie ins Hauptmenü des Pulsoximeters und aktivieren Sie die Uploadfunktion
 - o Die Daten werden nun übertragen.
 - o Beim Schließen der übertragenen Datei wird diese automatisch im Programm gespeichert und kann jederzeit wieder geöffnet und exportiert werden.
- 7. Reinigung/Pflege & Desinfektion**
- o Reinigung des Pulsoximeters nach der Messung mit **einem mit Bacillol/Desinfektionsmittel befeuchteten Tuch vorsichtig abwischen.**
 - o **Das Pulsoximeter nach jeder Nutzung mit dem USB-Kabel oder Netzteil aufladen.**
- 8. Literatur**
- o PO-300 Bedienungsanleitung

17. SOP Messung der Körperoberflächentemperatur mittels Thermochron iButton Temperatursensoren

EKFZ-SOP: Messung der Oberflächentemperatur mittels Thermochron iButtons Klinische Studieneinheit

Stand 02.08.2016

SOP Nr.:

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.:
Seite: 1 von 4 Gültig ab: Revision:	Titel: Messung der Körperoberflächentemperatur mittels Thermochron iButton Temperatursensoren
Autor: <u> Laura Mengel </u> Datum: <u> August 2016 </u> Geprüft von: _____ Datum: _____	

Diese SOP beschreibt die Vorgehensweise und Handhabung der Thermochron iButtons zur Messung der Oberflächentemperatur beim Menschen.

Inhaltsverzeichnis

1. Gerätebeschreibung	2
2. Kontakt/Ansprechpartner	2
3. Aussagekraft	2
4. Messprinzip	2
5. Testbedingungen/Voraussetzungen	2
6. Inbetriebnahme & Vorbereitung	2
7. Befestigungspunkte der iButtons auf dem Körper	3
8. Testende	3
9. Reinigung/Pflege & Desinfektion	4
10. Datenabruf/Auswertung	4
11. Literatur	4

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 4

SOP Nr.:

1. Gerätebeschreibung

ThermoChron iButtons
1-Wire Interface und Adapter
Laptop

2. Kontakt/Ansprechpartner

Maxim Integrated Deutschland
Landsberger Str. 300
80687 Munich
Germany
Tel.: +49 (0) 800-1824943

Institut für Ernährungsmedizin
PD Dr. Thomas Skurk
Tel.: +49 (0) 8161 71 2007
skurk@tum.de

M.Sc. Laura Mengel
Tel.: +49 (0) 8161 71 2397
laura.mengel@tum.de

3. Aussagekraft

- o Messung der Oberflächentemperatur an verschiedenen Stellen des Körpers während des Versuches. Messzeitpunkte können individuell eingestellt werden. Ausgabe und Auswertung erfolgen nach Übertragung der Daten vom iButton auf den Laptop.

4. Messprinzip

- o Messung an acht verschiedenen Körperstellen nach ISO-definierten Punkten (ISO 9886)
- o Bestimmung der allgemeinen Körperoberflächentemperatur in °C

5. Testbedingungen/Voraussetzungen

- o Körperbehaarung muss NICHT entfernt werden.

6. Inbetriebnahme & Vorbereitung

Jeder iButton muss einzeln programmiert werden:

- o Starte OneWire-Viewer
- o Verbinde Ausleser mit USB Port am Laptop → OK
- o Lege iButton in den Ausleser
- o Tab: „Clock“ → Synchronize Clock to PC time
- o Tab: “ThermoChron” → Start New Mission

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 2 von 4

SOP Nr.:

- o Pop Up: Sampling Rate : 1 min ; Mission Start Delay: 5 min → OK
- o Überprüfe: Is mission active? (bei "true" ist der iButton erfolgreich programmiert worden)
- o Entferne den iButton mit Hilfe eines anderen iButtons aus der Halterung des Auslesers.

7. Befestigungspunkte der iButtons auf dem Körper

- o Jeder iButton ist einer Körperstelle zugeordnet (siehe Abbildung 1)
- o iButtons werden mit der Sensorseite (geprägte Fläche) nach unten auf die Haut aufgelegt und mit Leukoplast befestigt.

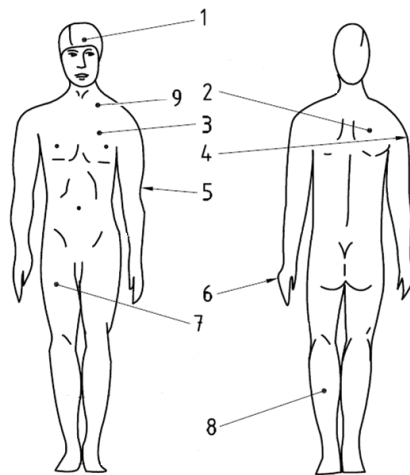


Abb. 1: Nach ISO 9886 festgelegte Körpermesspunkte (1-8): 1) Stirn 2) rechtes Schulterblatt 3) linke obere Brust 4) rechter Oberarm obere Hälfte 5) linker Oberarm untere Hälfte 6) linker Handrücken 7) rechter Oberschenkel vorne 8) linker Unterschenkel hinten; zusätzlich: 9) oberhalb des linken Schlüsselbeins, zur Messung der Wärmeabgabe von supraclavicularem braunen Fettgewebe.

8. Testende

- o Nach Beendigung der Messung werden iButtons vom Probanden entfernt und in das entsprechende Fach in der Aufbewahrungsbox gelegt.
- o Leukoplaststreifen werden entsorgt.
- o Jeder iButton wird einzeln auf den Ausleser gelegt, um die Daten zu übertragen.
- o Ggf. die Nummer des iButtons auffrischen, sollte diese nur noch schwer lesbar sein (Identifikationsliste der IDs und Nummern liegt der Aufbewahrungsbox bei)

SOP Nr.:

9. Reinigung/Pflege & Desinfektion

- o Reinigung der iButtons nach der Messung mit **einem mit Bacillo/Desinfektionsmittel befeuchteten Tuch vorsichtig abwischen.**
- o **Jeglicher, direkter Kontakt mit Flüssigkeiten ist zu vermeiden, die iButtons sind water resistant, aber nicht water proof!**

10. Datenabruf/Auswertung

- o Starte OneWire-Viewer
- o Verbinde Ausleser mit USB Port am Laptop → OK
- o Lege iButton in den Ausleser (der iButton muss hörbar einrasten!)
- o Tab: "ThermoChron" → Disable Mission
- o Tab: "Clock" → Halt Real-Time Clock (spart Batterie!)
- o Tab: "ThermoChron" → Temperatures → Rechtsklick → Save data to .csv File (iB-1-9-IDProband)
- o Die Daten können auch direkt in Excel kopiert werden (Copy Data with Labels)
- o Entferne den iButton mit Hilfe eines anderen iButtons aus der Halterung des Auslesers

11. Literatur


- o Handbuch ThermoChron iButtons
- o ISO 9886: Ergonomics — Evaluation of thermal strain by physiological measurements

18. SOP Messung der Kerntemperatur mittels „Zero Heat Flux Thermometry“ SpotOn Systems

EKFZ-SOP: Messung der Kerntemperatur mittels „Zero Heat Flux Thermometry“ Klinische Studieneinheit

Stand 06.09.2016

SOP Nr.:

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.:
Seite: 1 von 4 Gültig ab: Revision:	Titel: Messung der Kerntemperatur mittels „Zero Heat Flux Thermometry“ Spot On Systems
Autor: <u> Laura Mengel </u> Datum: <u> September 2016 </u> Geprüft von: _____ Datum: _____	

Diese SOP beschreibt die Vorgehensweise und Handhabung des SpotOn Systems zur Messung der Kerntemperatur beim Menschen.

Inhaltsverzeichnis

1. Gerätebeschreibung	2
2. Kontakt/Ansprechpartner	2
3. Aussagekraft	2
4. Messprinzip	2
5. Testbedingungen/Voraussetzungen	3
6. Inbetriebnahme & Vorbereitung	3
7. Während der Messung	3
8. Testende	3
9. Reinigung/Pflege & Desinfektion	4
10. Literatur	4

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 4

SOP Nr.:

1. Gerätebeschreibung

3M SpotOn Kontrolleinheit
SpotOn Temperatursensor

2. Kontakt/Ansprechpartner

3M Medica
Zweigniederlassung der 3M Deutschland GmbH
Fr. Traute Svenson
Hammfelddamm 11
41453 Neuss
0174/1803100
tsvenson@mmm.com
www.mmm.com/de

Institut für Ernährungsmedizin
PD Dr. Thomas Skurk
Tel.: +49 (0) 8161 71 2007
skurk@tum.de

M.Sc. Laura Mengel
Tel.: +49 (0) 8161 71 2397
laura.mengel@tum.de

3. Aussagekraft

Das 3M SpotOn System ist ein nicht-invasives System zur genauen Messung der Körperkerntemperatur. Eine kontinuierliche Messung über einen Einwegsensoren ermöglicht eine Standardisierung des Temperaturmonitorings während des gesamten Versuches.

4. Messprinzip

Durch eine Zone der Isolation wird der Wärmeverlust an die Umgebung verhindert. Dies hat den Aufbau eines isothermen Tunnels zur Folge, durch welchen die Körperkerntemperatur des Patienten an die Hautoberfläche aufsteigen kann. Dort kann die Körperkerntemperatur dann nicht-invasiv gemessen, gespeichert und kontinuierlich angezeigt werden.

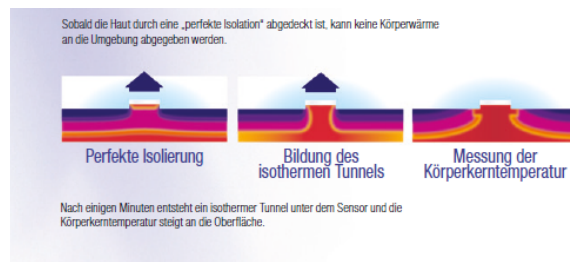


Abb. 1: Prinzip des isothermen Tunnels

5. Testbedingungen/Voraussetzungen

- o Der Umgebungstemperaturbereich sollte zwischen 10 und 40 °C liegen.
- o Der Messbereich liegt zwischen 25 und 43 °C

6. Inbetriebnahme & Vorbereitung

- o Das SpotOn Netzkabel auf der Rückseite der Kontrolleinheit einstecken
- o Stirn des Probanden oberhalb des Augenhöhlenrandes mit Desinfektionsmittel säubern und trocknen lassen.
- o Den Temperatursensor in den Sensorkabel-Steckerverbinder stecken. Die Anzeige auf der Kontrolleinheit wechselt auf „Betriebsbereit“.
- o Trägermaterialien vom Sensor abnehmen, um die Klebeschicht freizulegen.
- o Das Sensorkabel so positionieren, dass es vom Gesicht des Probanden wegführt.
- o Temperatursensor auf der Stirn des Probanden oberhalb des Augenhöhlenrandes anbringen (Sensorkante leicht andrücken).
- o Die Kontrolleinheit erfasst nach wenigen Sekunden, dass der Proband angeschlossen ist und die Anzeige der Kontrolleinheit wechselt auf „Gleichgewichtsbildung“ (Temperaturanzeige blinkt gelb).
- o Nach ca. 3 Minuten wird die Körpertemperatur des Probanden angezeigt.

7. Während der Messung

- o Der Sensor misst kontinuierlich die Kerntemperatur des Probanden und speichert diese in 5 Minuten Intervallen über die letzten zwei Messstunden ab (Diagramm unterhalb der Temperaturanzeige).
- o Ein weißer Balken steht für eine Temperatur über 36 °C, ein blauer Balken für eine Temperatur darunter.
- o Die Temperatur alle 10 Minuten handschriftlich festhalten (Kühlprotokoll).
- o Die Verbindung zur Kontrolleinheit darf kurzzeitig unterbrochen werden (z.B. beim Gang zur Toilette), sollte jedoch so kurz wie möglich gehalten werden.

8. Testende

- o Nach Beendigung der Messung Kabel vom Sensor trennen.

SOP Nr.:

- o An der Kante des Sensors beginnend den Sensor behutsam vom Probanden abnehmen (eine rote Stelle an der Stirn ist normal!) und entsorgen.

9. Reinigung/Pflege & Desinfektion

- o Reinigung der Kontrolleinheit nach Bedarf mit **einem befeuchteten Tuch vorsichtig abwischen.**

10. Literatur

- o 3M SpotOn Operator's Manual
- o 3M SpotOn Temperature Monitoring Sensor Instructions for Use

19. Kühlprotokoll



Kühlprotokoll:

Datum: __ / __ / ____

Probanden ID: _____

Start Ermittlung der Kältetoleranz: _____ Uhr

Zittern: bei _____ °C um _____ Uhr

Start KE: bei _____ °C um _____ Uhr

WC Pause(n): _____ Uhr, _____ Uhr, _____ Uhr

Aufzeichnung der Kerntemperatur mit dem Start des Kühlprotokolls:

Uhrzeit	Zeit [min]	Kerntemperatur [°C]
	0	
	10	
	20	
	30	
	40	
	50	
	60	
	70	
	80	
	90	
	100	
	110	
	120	
	130	
	140	
	150	
	160	
	170	
	180	
	190	
	200	
	210	
	220	
	230	
	240	
	250	
	260	
	270	



■ Version vom 09.03.2017 ■



20. SOP Kälteexposition mittels MaxiTermLite Decken zur Aktivierung des braunen Fettgewebes

EKFZ-SOP: Messung der Oberflächentemperatur mittels Thermochron iButtons Klinische Studieneinheit

Stand 06.09.2016

SOP Nr.:

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.:
Seite: 1 von 4 Gültig ab: Revision:	Titel: Kälteexposition mittels MaxiTermLite Decken zur Aktivierung des braunen Fettgewebes
Autor: <u> Laura Mengel </u> Datum: <u> September 2016 </u> Geprüft von: _____ Datum: _____	

Diese SOP beschreibt die Vorgehensweise im Rahmen des Kühlprotokolls der FREECE Studie.

Inhaltsverzeichnis

1. Gerätebeschreibung	2
2. Kontakt/Ansprechpartner	2
3. Aussagekraft	3
4. Messprinzip	3
5. Inbetriebnahme & Vorbereitung	3
6. Kühlprotokoll	3
7. Testende	4

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 4

SOP Nr.:

1. Gerätebeschreibung

2 x MaxiTermLite EinPatientendecken

Kälteumwälzthermostat WiseCircuWCR P8 170*320*150mm

2. Kontakt/Ansprechpartner

Ansprechpartner Bayern Süd:
Carola Rieger
Medizinprodukteberaterin
Fachkrankenschwester A+I
Lehrerin für Pflegeberufe
Mobil: +49 151 12249337
eMail: crieger@dahlhausen.de

P.J. Dahlhausen
Emil-Hoffmannstr.53
50996 Köln/ Germany
Tel: +49 2236 3913-0
Fax: +49 2236 3913 109
eMail: info@dahlhausen.de
Internet www.dahlhausen.de

Cincinnati Sub-Zero
12011 Mosteller Rd.
Cincinnati, OH 45241-1528 USA
Telephone: 513-772-8810
Toll Free: 1-800-989-7373
Fax: 513-772-9119
General Email: csz@genthermcsz.com
Medical Sales: internetmedsales@genthermcsz.com
Medical Support: medtechsupport@genthermcsz.com
Technical Support: <http://www.cszmedical.com/technical-support>

witeg Labortechnik GmbH
Am Bildacker 16
97877 Wertheim
Deutschland
Tel.: +49 (0)9342 / 9301 - 0
Fax: +49 (0)9342 / 9301 - 77
email: info@witeg.de
Webseite: www.witeg.de

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 2 von 4

SOP Nr.:

Institut für Ernährungsmedizin
PD Dr. Thomas Skurk
Tel.: +49 (0) 8161 71 2007
skurk@tum.de

3. Aussagekraft

- o Veränderung des Ruheenergieumsatzes durch moderate Kälteexposition, welche das braune Fettgewebe zur Wärmeproduktion anregt.

4. Messprinzip

- o Überprüfung der Oberflächentemperatur mittels iButtons (SOP iButtons)
- o Überprüfung der Kerntemperatur mittels SpotOn-Sensor (SOP Kerntemperatur)
- o Messen des Grundumsatzes mittels indirekter Kalorimetrie (SOP Grundumsatz)
- o Messen der Herzrate mittels Pulsoximeter (SOP Pulsoximeter)

5. Inbetriebnahme & Vorbereitung

- o Die Decken werden an die Schläuche des Thermostates angeschlossen.
- o Das Thermostat fasst weniger Wasser, als es für die Decken benötigt wird, daher muss beim Einschalten Wasser nachgegossen werden.
- o Bettlaken sollen den direkten Kontakt von Decke und Proband verhindern.
- o Das Umwälzthermostat wird eingeschaltet und auf 32 °C eingestellt.
- o Fehlendes Wasser muss nachgegossen werden, damit die Decken genügend mit Wasser gefüllt sind.
- o Die iButtons werden aktiviert und an den entsprechenden Stellen des Körpers befestigt
- o Der Proband wird gebeten sich unter die Decke zu legen. Die Decke muss während des gesamten Versuches den Hals bedecken. Ggf. den Probanden in die Laken „einpacken“. Die Füße dürfen unbedeckt sein.
- o Die erste Grundumsatzmessung kann durchgeführt werden.

6. Kühlprotokoll

- o Nach der ersten Grundumsatzmessung darf der Proband Wasser trinken bis ca. 1 Stunde vor der nächsten Messung.
- o Die SpotOn Sensor wird an der Stirn des Probanden befestigt.
- o Das Pulsoximeter wird eingeschaltet und an einem Finger des Probanden befestigt.
- o Das Umwälzthermostat wird nun auf 27 °C gestellt.
- o Die Kerntemperatur wird bis zum Ende des Versuches alle 10 Minuten dokumentiert.
- o Bei Erreichen der 27 °C wird das Thermostat auf 22 °C eingestellt.

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 3 von 4

SOP Nr.:

- o Regelmäßig nach dem Wohlbefinden des Probanden fragen.
- o Ab 22 °C wird die Temperatur alle 10 min um 2 °C gesenkt, bis der Proband ein Zittern verspürt.
- o Der Proband darf aufstehen und sich 5 Minuten mit einer Decke aufwärmen (oder bis das Zittern aufhört), währenddessen wird die Temperatur um 2 °C erhöht.
- o Der Proband legt sich wieder unter die Kühldecke, ab hier starten die zwei Stunden Kälteexposition.
- o Dem Probanden ist es erlaubt die Toilette zu besuchen, dies muss jedoch im Kühlprotokoll vermerkt werden.
- o Nach 2 Stunden wird der Grundumsatz erneut gemessen.

7. Testende


- o Nach Beendigung der Messung wird der SpotOn Sensor entfernt.
- o Der Proband darf nun aufstehen und die iButtons werden entfernt.
- o Der Proband darf sich anziehen und Wasser trinken.
- o Das Thermostat wird ausgeschaltet und das Wasser aus den Schläuchen in einen Eimer abgelassen.
- o Die Decken werden in der Dusche zum Auslaufen aufgehängt.
- o Die Bettlaken werden in einer weißen Wanne in die Waschküche zum Waschen gelegt.

21. SOP Messung des Grundumsatzes über indirekte Kalorimetrie bei spontan atmenden Personen mittels COSMED Quark RMR

EKFZ-SOP: Messung des Grundumsatzes mittels indirekter Kalorimetrie Klinische Studieneinheit

Stand 14.12.2015

SOP Nr.: 02_009/3

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.: 02_009/03
Seite: 1 von 7 Gültig ab: 14.12.2015 Revision: 3	Titel: Messung des Grundumsatzes über indirekte Kalorimetrie bei spontan atmenden Personen mittels COSMED Quark RMR
Autor: <u>Julia Petzold, Drabsch Theresa</u>	Datum: <u>August 2015</u>
Geprüft von: <u>Dr. Skurk Thomas</u>	Datum: <u>Dezember 2015</u>

Diese SOP beschreibt die Vorgehensweise und Handhabung des COSMED Quark RMR für die Durchführung von metabolischen Messungen bei spontan atmenden Personen.

Inhaltsverzeichnis

1. Gerätebeschreibung.....	2
2. Kontakt/Ansprechpartner.....	2
3. Aussagekraft	3
4. Messprinzip.....	3
5. Testbedingungen/Voraussetzungen.....	3
6. Inbetriebnahme & Vorbereitung	3
7. Kalibration	4
7.1 Volumenkalibration.....	4
7.2 Gaskalibration	4
8. Patienten erfassen.....	5
9. Testdurchführung	5
10. Testende	6
11. Datenabruf/Auswertung.....	6
11.1 Änderung des Intervalls zur Berechnung des Mittelwertes	6
12. Reinigung/Pflege & Desinfektion	6
12.1 Periodische Reinigung und Desinfektion der Turbine (einmal im Monat)	7
13. Literatur.....	7

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 7

1. Gerätebeschreibung

COSMED Quark RMR

Quark RMR – Seriennummer 2012080274 – Baujahr 2012 (Freising, Studieneinheit)

Quark RMR – Seriennummer 2013010303 – Baujahr 2013 (München, Studienzimmer)

Hersteller: COSMED S.r.l.

2. Kontakt/Ansprechpartner

COSMED Deutschland

Rupertstrasse 13

83413 Fridolfing

Tel.: +49 8684 968 5457

Fax: +49 8684 968 5458

www.cosmed.com

Markus Stadler

Mobile: +49 151 241 71 911

markus.stadler@cosmed.com

Michael Zeiser

Mobile: +49 171 733 2475

Michael.zeiser@cosmed.com

Benjamin Roesch

Mobile +49 151 431 30 994

benjamin.roesch@cosmed.com

Fabian Grafetstetter

Mobile: +49 176 227 666 92

fabian.grafetstetter@cosmed.com

Marco Aufenberg (Techniker)

Mobile: +49 151 431 30 942

marco.aufenberg@cosmed.com

Institut für Ernährungsmedizin

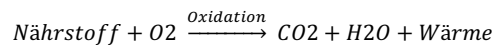
PD Dr. Thomas Skurk

Tel.: +49 (0) 8161 71 2007

skurk@tum.de

3. Aussagekraft

- o Kalorienbedarf der lebenswichtigen Organe (Herz, Gehirn, Lunge, usw.) in Ruhe für ein Zeitintervall von 24 Stunden; 60-70% Anteil am Gesamtenergiebedarf (Resting Metabolic Rate; RMR)

4. Messprinzip

- o Messung von Sauerstoffverbrauch (VO_2 [ml/min]) und Kohlendioxid-Produktion (VCO_2 [ml/min])
- o Bestimmung von RMR und RQ (Respiratory Quotient)

- o $\text{RQ} = \text{ausgeatmetes CO}_2 / \text{verbrauchter O}_2$

$$\text{RQ} = \frac{\text{VCO}_2 \text{ (ml/min)}}{\text{VO}_2 \text{ (ml/min)}}$$

- o *Verkürzte Gleichung von Weir:*
 $\text{RMR}[\text{kcal}/24\text{h}] = [3,9 * (\text{VO}_2) + 1,1 * (\text{VCO}_2)] * 1,44$ (s. Kap. 13)

5. Testbedingungen/Voraussetzungen

- o 12 Stunden nüchtern, rauchfrei über Nacht
- o keine übermäßige sportliche Aktivität am Abend vor der Messung und direkt vor der Messung (nicht mit dem Fahrrad zur Untersuchung kommen)
- o Frauen möglichst in der ersten Zyklusphase messen, nicht während Schwangerschaft und Stillzeit
- o Möglichst konstante Raumtemperatur (ca. 22 °C, Teilnehmer ggf. zudecken)
- o Messung in entspannter Rückenlage, der Proband darf aber nicht einschlafen
- o Messung in Ruhe, d.h. keine weiteren Personen sollten den Raum betreten oder diesen verlassen
- o Proband sollte während der Messung nicht sprechen und sich nicht bewegen
- o Irritierende Deckenbeleuchtung möglichst ausschalten
- o Größe, Gewicht und fettfreie Körpermasse (SOP 2-006/01) vor der Messung bestimmen
- o Wenn möglich keine Blutentnahme vor der Messung

6. Inbetriebnahme & Vorbereitung

- o Gerät (Hauptschalter an der Konsole und „on/off-Schalter für „Blower“ an der Rückseite) und PC einschalten
 - o **mind. 20 Minuten Aufwärmzeit!**
 - o Teilnehmer mindestens 15 Min. **ohne Haube** liegend zur Ruhe kommen lassen
- Beachten:* Kalibration und/oder Testungen niemals vor Erreichen der Aufwärmzeit durch-

führen. Das führt mit Sicherheit zu falschen Messwerten!

7. Kalibration

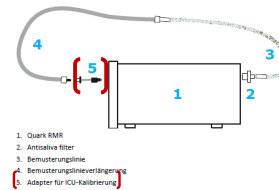
- o Software „Kalorimetrie“ (Quark RMR) vom Desktop starten

7.1 Volumenkalibration

- o Turbine (Flowmeter) an der Rückseite des Gerätes vom Anschluss mit der Aufschrift „RMR Flowmeter“ abziehen und über Adapter auf die Kalibrationspumpe stecken
- o Menü → Kalibration → Turbine → Dialogbox „**Kalibration der Turbine**“
- o nach Aufforderung am Bildschirm den Kolben der Kalibrationspumpe 10-12x stets bis zum Anschlag langsam hin- und her bewegen, bis die Ergebnisse angezeigt werden
- o Dialogbox „**Ergebnisse**“ → Kalibration war erfolgreich, wenn alle Werte schwarz angezeigt werden* → mit OK beenden
Beachten:* Werte außerhalb des zulässigen Bereichs werden rot dargestellt. In diesen Fällen muss die Kalibration wiederholt und/oder COSMED verständigt werden. Vor **jeder Messung muss die Volumenkalibration wiederholt werden.

7.2 Gaskalibration

- o Hahn des Druckventils der Gasflasche an der Rückseite des Gerätewagens öffnen
 → kleiner Gashahn horizontal = offen; Gashahn vertikal = geschlossen
- o Absaugstrecke aus der Turbine ziehen und mit dem Anschluss an der Vorderseite des Quark RMR verbinden (Adapter 5 wird nur für die Kalibration bei Messungen mit beatmeten Personen benötigt)



- o Menü → Kalibration → Gas → ERGO-RMR → OK
- o Gaskalibration verläuft automatisch, bis die Ergebnisse angezeigt werden
- o Während der Kalibration und der Messung den Gerätewagen nicht berühren! Erschütterung stört die paramagnetischen Sensoren.
- o Dialogbox **Ergebnisse** → Kalibration war erfolgreich, wenn alle Werte schwarz angezeigt werden* → mit OK beenden; Gasflasche zudrehen.
- o Datei → Kalibration beenden
- o Absaugstrecke wieder in die Turbine stecken und an der Geräterückseite einstecken.
**Beachten:* Werte außerhalb des zulässigen Bereichs werden rot dargestellt. In diesen Fällen muss die Kalibration wiederholt und/oder COSMED verständigt werden.
 Vor **jeder** Messung muss die Gaskalibration wiederholt werden.

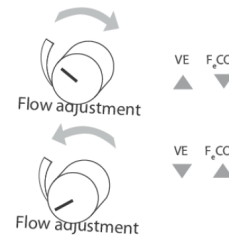
8. Patienten erfassen

- o Datei → Patienten → Neu → Patienteninformation eingeben, d.h. Pseudonym, Geschlecht, Geburtsdatum → mit „OK“ bestätigen
- o bereits erfasste Patienten durch Klick auf „Liste“ oder „Suchen“ auswählen
Beachten: Geschlecht auf „Male“ voreingestellt. Für weibliche Probanden muss neu ausgewählt werden.

9. Testdurchführung

- o Datei → Test → Dialogbox **Testdurchführung** → Eingabe von Größe und Gewicht
- o „RMR mit Canopy“ auswählen, Protokoll: „RMR“, Workspace: „RMR“ → mit „OK“ bestätigen.
- o das System gibt die empfohlene Ventilation (VE) aus, die vom Gerät auf Basis der eingegebenen Patientendaten berechnet wurde (diesem Wert muss man sich merken, da er nach dem Bestätigen mit „OK“ nicht mehr abgerufen werden kann, er erleichtert jedoch die Findung des Gleichgewichts) → mit „OK“ bestätigen
- o Teilnehmer die Canopy-Haube überstülpen und den Abdeckmantel möglichst luftdicht ausbreiten. Absaug Schlauch nach hinten und Anschlüsse kontrollieren.
- o Es starten die Vormessungen → alle Messparameter werden angezeigt, die eigentliche Messung ist noch nicht gestartet
- o Einstellung des Luftdurchsatzes der Pumpe mittels *flow adjustment*-Regler (Drehregler) damit eine CO₂-Konzentration (FeCO₂) von **1,0 %** erreicht wird
Beachten:!!! Wichtigster Kontrollparameter ist die FeCO₂ !!! Diese sollte sich während der Messung um 1,00 einpendeln. Solange die Werte zwischen 0,7 und 1,3 schwanken ist alles OK. Regeln Sie die Ventilation so, dass die FeCO₂ diesen Bereich erreicht.

- o FeCO₂ zu hoch → Ventilation muss erhöht werden
→ Regler im Uhrzeigersinn drehen
- o FeCO₂ zu niedrig → Ventilation muss gesenkt werden
→ Regler gegen den Uhrzeigersinn drehen



- o *Beachten:* Vorsichtige Anpassung des *flow*, da Regler sehr empfindlich. Nach Flussmodifikation mind. 30 Sek. warten, um die Veränderungen zu beobachten
- o FeCO₂ im akzeptablen Bereich (1,0) → F2 oder Startsymbol drücken → Messung startet

Beachten: Den Drehregler während der Messung nur betätigen, wenn FeCO₂ konstant außerhalb des oben angegebenen Bereiches! (Dies sollte nicht für einzelne Messwerte erfolgen, sondern nach Möglichkeit vermieden werden; falls nötig im Ausdruck dokumentieren!)

10. Testende

- o Messung endet nach 30 Min. durch das Drücken der „STOP“-Taste
- o die Canopy-Haube absetzen
- o Beenden des Tests mit Datenspeicherung durch Auswahl „Test/Ende“ oder „STOP“ oder Alt+F3 → wählen Sie „Ja“ zum beenden oder „Nein“ zum Fortfahren
- o Ausdruck des aktiven Fensters
- o Reinigung mit 1%iger Natriumhypochlorit Lösung nach jedem Probanden
Beachten: Werden im Tagesverlauf mehrere Patienten nacheinander gemessen, sollte besonders in kleinen Untersuchungsräumen **zwischendurch gelüftet** und anschließend vor **JEDER** Messung, die Turbine und das Gas neu kalibriert werden.

11. Datenabruf/Auswertung

- o Software → Ansicht → Daten → Patient/Test auswählen → OK und alle Tests des Patienten werden angezeigt
- o durch Doppelklick den gewünschten Test aussuchen → Grafik mit der Verlaufskurve wird angezeigt
- o Zusammenfassung des RMR-Tests unter Ansicht → RMR

11.1 Änderung des Intervalls zur Berechnung des Mittelwertes

- o Doppelklick auf die Verlaufskurve oder rechte Maustaste → RMR berechnen
- o Im erscheinenden Fenster können Anfangs- und Endpunkt des Rechenintervalls verschoben werden
- o Anfangslinie = linke Maustaste; Endlinie = rechte Maustaste
- o OK → RMR-Mittelwert wird für das neu festgelegte Intervall berechnet (Ergebnisprotokoll der Auswertung)
- o nach Möglichkeit sollten die Voreinstellungen nicht verändert werden; falls nötig auf Ausdruck dokumentieren)
- o *Details zur Datendarstellung und Aufbereitung im Handbuch Software Suite Kapitel „Ansicht der Daten“*

12. Reinigung/Pflege & Desinfektion

- o Verwendung antibakterieller Einwegfilter + Desinfektion aller Teile, die mit der ausgeatmeten Luft in Berührung kommen
- o Reinigung von Haube und Mantel nach der Messung mit **nicht-alkoholischer** Lösung (z.B. Wasser, Barrycidal, **Natriumhypochlorit 1%**). Dabei ist darauf zu achten, dass bei mehreren Messungen an einem Tag zusätzlich nach Anwendung von Hypochlorid mit Wasser gereinigt wird, um den Probanden keinen Chlordämpfen auszusetzen.
- o Der antibakterielle Einwegfilter muss nach **10** Messungen gewechselt werden
- o Absaugstrecke zwischen den Messungen kühl und dunkel aufbewahren; Wechsel der Absaugstrecke nach **100** Messungen bzw. **6** Monaten

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 6 von 7

- o **Beachten:** Wenn sich die Absaugstrecke bräunlich verfärbt und die Gaskalibration einen verzögerten Anstieg ergibt, auch einen Austausch des wasserdampfdurchlässigen Sammelschlauches erwägen.

12.1 Periodische Reinigung und Desinfektion der Turbine (einmal im Monat).

- o Turbine abnehmen und Absaugstrecke herausziehen
- o 60min in Desinfektionsmittellösung eintauchen (Descogen-I® von Antiseptika 1,5%)
- o Abspülen des Desinfektionsmittels durch Eintauchen in klares Wasser → NICHT unter fließendem Wasser abspülen
- o empfohlene Trocknungszeit von 12h beachten → Propeller unter leichtem Luftstrom testen → Turbine wieder montieren



- o *Details im Handbuch (siehe Desktop) System Quark RMR Kapitel „Instandhaltung des Systems“*

13. Literatur

- o Handbuch Software Quark RMR
- o Handbuch System Quark RMR
- o Kurzanleitung Quark RMR: Durchführung einer Indirekten Kalorimetrie mit Canopy-Haube in 21 Schritten
- o Canopy-Dilution Messgrundlagen 1.1
- o Branson, Richard D. & Johannigman, Jay A. (2004). Techniques and Procedures. The Measurement of Energy Expenditure. Nutrition in Clinical Practice, 19:622-636.
- o De Weir, J.B. (1949). New Methods for Calculating Metabolic Rate with Special Reference to Protein Metabolism. Journal of Physiology 109, 1-9.

Bitte studienspezifische Vereinbarungen (z.B. der Untersuchungszeit bei z.B. bei Kindern, älteren Personen, usw.) beachten. Siehe jeweilige Studienunterlagen!

22. SOP Standardisierte Blutentnahme (BE)

EKFZ Standardarbeitsanweisung (SOP): Standardisierte Blutentnahme Methode
SOP Nr.: 2 – 001

	STANDARDARBEITSANWEISUNG SOP NR.: 2 – 001/06
Seite: 1 von 3 Gültig ab: 20.01.2016 Revision: 6	Titel: Standardisierte Blutentnahme (BE)
Autor: _____ Lee _____	Datum: _____ 20.01.2016 _____
Geprüft von: _____ Skurk _____	Datum: _____ 20.01.2016 _____

Gliederung:

- Allgemeine Anforderungen
- Vorbereitung
- BE aus der Vene
- BE aus der Fingerbeere
- Spezielle Blutentnahme
- Lagerung von Blutproben
- Anhang (nicht Bestandteil der SOP)

• **Allgemeine Anforderungen:**

- Blutentnahmen sind ausschließlich von Ärzten oder speziell eingewiesenem Personal (z.B. Zertifikat Wallner-Schulen) durchzuführen. **Während der Blutentnahme muss ein Arzt erreichbar sein.**

- BE möglichst am nüchternen Patienten zwischen 8:00 und 9:00 Uhr. Idealerweise sollte der Patient 5 Min vorher sitzen (zwischen Sitzen und Liegen kann es zu deutlichen Unterschieden z.B. bei den Elektrolytkonzentrationen kommen).

- Nach der Blutentnahme sollten das Serum frühestens nach 20 min, jedoch innerhalb einer Stunde für 10 Min bei 3.000g abzentrifugiert werden.

• **Vorbereitung:**

Einsendeschein für externes Labor vorbereiten

Entnahmeröhrchen vorbereiten und bekleben / beschriften

• **BE aus der Vene:**

- Zur BE Faust nicht ballen oder pumpen lassen. Staubbinde 1 handbreit herzwärts anlegen und 1 min etwa 20-30 mmHg über dem diast. RR stauen. Desinfektionsmittel auf den Tupfer sprühen und Punktionsstelle abwischen. Nach 30 Sekunden Punktion durchführen.

- **Entnahmereihenfolge:** 1. 1x Serum, 2. Citratblut, 3. EDTA-Blut, 4. Fluorid-Blut,

Diese SOP ist Eigentum des EKFZ und nicht an unautorisierte Personen auszuhändigen.

Seite 1 von 3

5. weitere (Serum)-Röhrchen

• **BE aus der Fingerbeere:**

Zur Entnahme kleiner Mengen Blut (10-100µl) für die Bestimmung des Blutzuckers (BZ) oder der Gewinnung von Serum (EDTA-Plasma).

- Zur Messung des Blutzuckers wird mit einer Stechhilfe (Accu-Check® Softclix® Pro) nach dem Händewaschen ohne Desinfektion leicht seitlich an einem Finger eingestochen und der erste Blutstropfen verworfen.
- für die Messung mit dem HemoCue-Gerät: Eine Küvette (501) wird bei Raumtemperatur an den ausgetretenen Blutstropfen gehalten und die gelbe Kammer blasenfrei befüllt. Die Messung der BZ-Konzentration muss sofort erfolgen.
- Alternativ: Bei Entnahme mit einer End-to-End Kapillare muss mit dem nachlaufenden Blut diese bis über den 2. schwarzen Füllstrich befüllt werden. Wichtig ist die Befüllung **ohne** Luftblasen, da es hierbei zu Falschbestimmungen kommt. Die Kapillare wird **in** einem Reaktionsgefäß mit Lysepuffer an der Sollbruchstelle abgebrochen, ohne in den Lysepuffer einzutauchen, und das Reaktionsgefäß geschüttelt, bis das Blut aus der Kapillare vollständig lysiert ist. Die Bestimmung der Probe muss innerhalb von 30 Min. erfolgen. Zur Handhabung des Blutzuckermessgeräts siehe SOP 3-001.
- Zur Gewinnung von Serum aus der Fingerbeere (oder EDTA-Plasma) wird die Stechhilfe auf Stufe 3 eingestellt und wiederum leicht seitlich in einen Finger eingestochen. Die Kapillare wird nun jedoch komplett gefüllt. Für die Gewinnung von Serum muss das Blut nun mindestens 20 Min gerinnen. Anschließend wird das Reaktionsgefäß verschlossen und bei 3.000g für 10 Min zentrifugiert. (Zubehör: z.B. Sarstedt Microvette 200µl Serum/Gel (EDTA), End-to-End Kapillare)

• **Spezielle Blutentnahmen:**

1) Zytokine, Hormone, Adiponectin (Serum)

S-Monovette®* (Kunststoff) mit Gerinnungsaktivator und Trenngel, 9 ml, 92x16mm, goldener Verschluss, Best.-Nr.: 02.1388 (Sarstedt, Nümbrecht)

2) Zytokine, Fibrinogen, vWF, PAI-1 (Citrat-Plasma)

S-Monovette® (Kunststoff) mit Natrium-Citrat 1:10, 5 ml, 92x11 mm, grüner Verschluss, Best.-Nr. 05.1071 (0,106 M Natrium-Citrat vordosiert) (Sarstedt, Nümbrecht)

Für PAI-1 Messungen müssen die Röhrchen vor der BE im Eisbad stehen und nach der BE direkt Eis gekühlt werden. Das Plasma muss umgehend bei 4°C bei 3.000g für 10 Min zentrifugiert werden.

3) Blutbild (EDTA-Plasma)

S-Monovette®* (Kunststoff) mit K₃EDTA: 2,7 ml, 66x11 mm, durchsichtig-rote Kappe (1,2 – 2 mg K₃EDTA /ml Blut entspr. Max. 1%), Best.-Nr. 05.1167 (Sarstedt, Nümbrecht)

4) RNA (PAXgene® - Vollblut)

Röhrchen (Kunststoff) mit Stabilisierungslösung*: Entnahmenvolumen 2,5 ml;

100x16 mm, orangefarbener Stopfen, Best.-Nr. 762125 (PreAnalytix)

5) genomische Analysen (EDTA-Vollblut)

Kalium-EDTA S-Monovette*: 2,7 ml, 66x11 mm, durchsichtig-rote Kappe (1,2 – 2 mg K₃EDTA /ml Blut entspr. Max. 1%), Best.-Nr. 05.1167 (Sarstedt, Nümbrecht). Das Blut wird direkt zentrifugiert und die kernhaltigen Blutzellen (buffy coat) an der Phase zwischen dem roten Blutkuchen und dem Plasma möglichst vollständig abgenommen.

*Lagerung der Röhrchen bis zur Blutabnahme im Dunklen bei 20-25°C. Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen!

Lagerung von Blutproben:

Falls es notwendig ist die Proben für z.B. klinisch-chemische Analysen über Nacht aufzubewahren können Serumröhrchen abzentrifugiert und wie NaF im Kühlschrank, EDTA-Röhrchen für Blutbilder bei Raumtemperatur und Citrat-Röhrchen abzentrifugiert und bei -20°C gelagert werden.

Weitere Verbrauchsmaterialien

Einmalhalter aus Kunststoff für Röhrchen mit Durchmesser 13 mm und 16 mm, weiß, Best.-Nr. 364815 (BD Vacutainer Systems)

Braun Venenverweilkanüle Vasofix Braunüle, grün, 1,3x33mm, 18G, Best.-Nr. 4268130S-01 (B.Braun)

BD Vacutainer

Luer-Adapter Ansatzstück zur Blutentnahme aus Venenverweilkanülen, blau, steril, Best.-Nr. 367300 (BD Vacutainer Systems)

Literatur:

Gruder WG et al. Die Qualität diagnostischer Proben. J lab Med 2002;26:276-283

Thomas L. Labor und Diagnose. Hg. von Th-Books. 8. Auflage, 2012; ISBN: 9783980521581

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Hans Hauner, Inhaber des Lehrstuhls für Ernährungsmedizin der TU München, für die Gelegenheit, an einem hochaktuellen, spannenden Projekt mitarbeiten zu dürfen, das dazu beiträgt, die Genetik der kälteinduzierten Thermogenese besser zu verstehen. Das respektvolle und freundlich-motivierende Betreuungsverhältnis wusste ich sehr zu schätzen.

Des Weiteren bedanke ich mich herzlich bei meiner Mentorin Frau Dr. Christina Holzapfel sowie meiner Mitdoktorandin Laura Mengel, die mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen und mich geduldig und kollegial mit den Abläufen der FREECE-Studie und der Laborarbeit vertraut machten.

Allen Mitarbeiter:innen des Lehrstuhls für Ernährungsmedizin der TU München möchte ich für ihre freundliche Aufnahme und Kooperation danken.

Darüberhinaus gilt der Dank meiner Familie und meinen Freund:innen, die mich mit Diskussionen, Vorschlägen und wertvollen Anregungen unterstützt haben. Kilian Köppl möchte ich für die Hilfe bei IT-Problemen danken.

Euer Hatti

Frühjahr 2021