

Aktiivisen ruskean rasvakudoksen vaikutus elimistön  
glukoosimetaboliaan normaalipainoisilla ja ylipainoisilla ihmisillä

Milla Karjalainen

Fysiologia ja genetiikka

Pro gradu -tutkielma

Laajuus: 30 op

Ohjaajat:

Teemu Saari

Tiina Henttinen

Kirsi Virtanen

23.5.2024

Pro gradu -tutkielma

**Pääaine:** Biologia; fysiologia ja genetiikka

**Tekijä:** Milla Karjalainen

**Otsikko:** Aktiivisen ruskean rasvakudoksen vaikutus elimistön glukoosimetaboliaan normaalipainoisilla ja ylipainoisilla ihmisillä

**Ohjaajat:** Teemu Saari, Tiina Henttinen, Kirsi Virtanen

**Sivumäärä:** 59

**Päivämäärä:** 23.5.2024

---

Ruskea rasvakudos on metabolisesti aktiivista kudosta, joka energian varastoinnin sijaan kuluttaa sitä ja tuottaa lämpöä non-shivering-termogeneesiksi kutsutussa prosessissa. Ruskea rasvakudos hyödyntää energianlähteenään sekä rasvahappoja että glukoosia ja ympäristön matala lämpötila lisää niiden sisäänottoa kudokseen. Ruskean rasvakudoksen aktiivisuuden on havaittu olevan yhteydessä hyvään metaboliseen terveyteen ja tehokkaaseen perusaineenvaihduntaan. Ylipainossa kudoksen kylmäaktivoituminen puolestaan on vähäistä ja kudoksen aktiivisuuden on havaittu olevan kääntäen yhteydessä painoindeksiin.

Tämän pro gradu -tutkielman tavoitteena oli selvittää, onko ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus yhteydessä elimistön hyvään glukoosimetaboliaan normaali- ja ylipainoisilla henkilöillä. Ruskean rasvakudoksen kylmäaktivoitumisesta, elimistön glukoosimetaboliasta ja maksan toiminnasta kertovia mittaustuloksia vertailtiin normaali- ja ylipainoisten tutkimushenkilöiden välillä. Tutkimuksessa tarkasteltiin myös avantouinnin vaikutuksia ruskean rasvakudoksen aktiivisuuteen ja tutkittiin pitkäaikaisella kylmäinterventiolla toistuvien kylmäältistuksien vaikutuksia ruskean rasvakudoksen aktiivisuuteen ja elimistön glukoosimetaboliaan. Elimistön glukoosimetabolialla ja siinä tapahtuvia muutoksia selvitettiin veriparametreista ja ruskean rasvakudoksen aktiivisuus määritettiin mittaamalla akuutin kylmäältistuksen aikana glukoosin sisäänottoa ruskeaan rasvakudokseen PET-kuvantamisella hyödyntäen [<sup>18</sup>F] FDG-merkkiainetta.

Normaalipainoisilla tutkimushenkilöillä ruskea rasvakudos oli aktiivisempaa kuin ylipainoisilla, minkä lisäksi normaalipainoiset olivat insuliiniherkempiä kuin ylipainoiset. Ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus oli yhteydessä elimistön insuliiniherkkyyteen erityisesti ylipainoisilla, mutta myös normaalipainoisilla henkilöillä. Toistuvien kylmäältistuksien vaikutukset olivat lupaavia, sillä ruskean rasvakudoksen aktiivisuus lisääntyi osalla tutkimushenkilöistä kylmäintervention myötä. Aihetta tulee kuitenkin tutkia vielä lisää suuremmalla otoskoolalla. Myös avantouinnin vaikutuksista vaaditaan lisätutkimuksia selkeiden johtopäätösten tekemiseksi. Kokonaisuudessaan tutkimuksen tulokset osoittivat, että ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus oli yhteydessä elimistön hyvään insuliiniherkkyyteen ja kudoksen aktiivisuutta oli mahdollista lisätä toistuvilla kylmäältistuksilla.

---

**Asiasanat:** ruskea rasvakudos, kylmäältistus, PET-kuvantaminen, glukoosimetabolialla, diabetes, ylipaino

Master's thesis

**Subject:** Biology; physiology and genetics

**Author:** Milla Karjalainen

**Title:** The effect of active brown adipose tissue on glucose metabolism in normal-weight and overweight individuals

**Supervisors:** Teemu Saari, Tiina Henttinen, Kirsi Virtanen

**Number of pages:** 59

**Date:** 23.5.2024

---

Brown adipose tissue is metabolically active tissue that expends energy to produce heat in a process called non-shivering thermogenesis. Brown adipose tissue uses both fatty acids and glucose as its energy source, and a low ambient temperature increases their uptake by the tissue. Activity of brown adipose tissue has been found to be associated with good metabolic health and a high basal metabolic rate. In obesity, cold-induced activation of brown adipose tissue is usually low, and activity of the tissue has been found to be inversely correlated with body mass index.

The aim of this master's thesis was to determine whether a high activity of brown adipose tissue is associated with improved systemic glucose metabolism in normal and overweight people. Measurements of brown adipose tissue activity, systemic glucose metabolism and liver function were also compared between normal and overweight subjects. The study also examined the effects of winter swimming on brown adipose tissue activity and investigated the effects of repeated cold exposures on brown adipose tissue activity and glucose metabolism in the form of a long-term cold intervention. Systemic glucose metabolism was studied by examining specific blood parameters, and brown adipose tissue activity was determined by measuring glucose uptake into brown adipose tissue during acute cold exposure with PET imaging using the [18F] FDG marker.

Brown adipose tissue was found to be more active in normal weight subjects than in overweight subjects, and normal weight subjects were also more insulin sensitive than overweight subjects. Brown adipose tissue activity was associated with better insulin sensitivity, especially in overweight subjects, but also in normal-weight subjects. The effects of repeated cold exposures were promising, as brown adipose tissue activity in some subjects increased with the intervention. However, this topic needs further researching with a larger sample size. Further studies on the effects of winter swimming are also required to draw clear conclusions. Overall, the results of the study showed that high activity of brown adipose tissue was associated with improved systemic insulin sensitivity and that it was possible to increase the activity of brown adipose tissue with repeated exposure to cold.

---

**Keywords:** brown adipose tissue, cold exposure, PET-imaging, glucose metabolism, diabetes, obesity

1. JOHDANTO.....	1
<b>1.1 Ruskea rasvakudos ihmisillä</b> .....	2
1.1.1 Ruskean ja beigen rasvakudoksen kehitys.....	2
1.1.2 Ruskean rasvakudoksen termogeneesi .....	3
1.1.3 Ruskean rasvakudoksen energia-aineenvaihdunta.....	5
<b>1.2 Metaboliset sairaudet ja ruskea rasvakudos</b> .....	7
1.2.1 Ylipaino ja metabolinen oireyhtymä .....	7
1.2.2 Glukoosimetabolian häiriöt .....	8
1.2.3 Ruskea rasvakudos metabolisen terveyden edistämässä.....	11
<b>1.3 Tutkimusmenetelmiä</b> .....	13
1.3.1 PET-kuvantaminen .....	13
1.3.2. Glukoosimetabolian mittaaminen .....	15
<b>1.4 Tutkimuksen tavoitteet</b> .....	18
2. AINEISTO JA MENETELMÄT.....	19
<b>2.1 Tutkimushenkilöt</b> .....	19
<b>2.2 In vivo -tutkimukset</b> .....	20
2.2.1 Tutkimus I – Ruskean rasvakudoksen kylmäaktivoituminen .....	20
2.2.2 Tutkimus II – Kylmäinterventio .....	21
<b>2.3 Aineistojen käsittely</b> .....	22
2.3.1 PET-kuva-analyysi .....	22
2.3.2 Glukoosiprofiilit .....	23
2.3.3 Tilastoanalyysit.....	25
3. TULOKSET .....	26
<b>3.1 Terveystarkastus ja tutkimus I</b> .....	26
3.1.1 Normaali- ja ylipainoisten tutkimushenkilöiden mittaustulosten vertailua .....	26
3.1.2 Aktiivisen ruskean rasvakudoksen vaikutukset elimistön glukoosimetaboliaan .....	29
3.1.3 Avantouinnin vaikutukset ruskean rasvakudoksen aktiivisuuteen .....	32
<b>3.2 Tutkimus II - Kylmäinterventio vaikutukset ruskean rasvakudoksen aktiivisuuteen</b> .....	33
4. POHDINTA .....	36
<b>4.1 Tulosten tarkastelu</b> .....	36
4.1.1 Ruskean rasvakudoksen aktivointi kylmäaltistuksella .....	36
4.1.2 Aktiivisen ruskean rasvakudoksen vaikutukset elimistön glukoosimetaboliaan .....	38
4.1.3 Ylipainon vaikutukset elimistön glukoosimetaboliaan ja maksan toimintaan.....	40
<b>4.2 Tutkimuksen rajoitukset sekä aiheita jatkotutkimuksille</b> .....	41
<b>4.3 Yhteenveto</b> .....	44
5. KIITOKSET .....	45
LÄHDEVIITTEET.....	46

## 1. JOHDANTO

Ruskea rasvakudos (engl. brown adipose tissue, BAT) löydettiin jo vuonna 1551, kun sveitsiläinen tiedemies Conrad Gessner havaitsi kudosta murmeleilla ja kuvaili sitä seuraavasti; ”Ei lihasta, ei rasvaa, vaan jotain siltä väliltä”. 1900-luvun alussa ruskea rasva tunnistettiin lämpöä tuottavaksi elimeksi, mutta sen toiminnan ajateltiin pitkään olevan merkittävässä roolissa ainoastaan jyrsijöillä ja vastasyntyneillä. Vuosisadan loppupuolella käsitys alkoi kuitenkin muuttua, kun ruumiinavauksissa aikuisilta ihmisiltä löytyi ruskeaksi rasvaksi tulkittua kudosta. Kun kudosta havaittiin olevan huomattavasti enemmän ulkotyötä tehneillä kuin sisätyöntekijöillä, heräsi ajatus kylmälämmityksen potentiaalista lisätä ruskean rasvan määrää (Huttunen ym., 1981).

Muutaman viime vuosikymmenen aikana ruskean rasvakudoksen tutkimus on mullistunut PET-kuvantamisen myötä. Kun 1990-luvun lopulla [ $^{18}\text{F}$ ] -fluorodeoksiglukoosin ([ $^{18}\text{F}$ ] FDG) käyttö PET-kuvantamisessa yleistyi syöpädiagnostiikan työkaluna, noin joka viidennellä tutkitulla havaittiin kaulan alueella sekä selkärangan ympärillä FDG-aktiivisuuskertymiä. Kertymien arveltiin aluksi liittyvän lihasten aktiivisuuteen kuvauksen aikana, mutta myöhemmin merkkiainekertymien ymmärrettiin sijaitsevan ruskeassa rasvakudoksessa. Kertymiä havaittiin runsaasti naisilla, lapsilla, sekä hoikilla henkilöillä, minkä lisäksi niiden määrän huomattiin olevan yhteydessä ulkona vallitsevaan lämpötilaan (Hany ym., 2002). Ruskean rasvakudoksen metabolinen aktiivisuus aikuisilla todistettiin ensimmäistä kertaa vuonna 2009 kolmessa tutkimuksessa, joissa PET-kuvantaminen oli yhdistetty kuvatusta kudoksesta otettujen näytepalojen analyysiin (Saito ym., 2009; van Marken Lichtenbelt ym., 2009; Virtanen ym., 2009). Näytepalojen biokemiallisessa analyysissä selvisi, että kudoksesta ilmeni ruskealle rasvalle ominaisia proteiineja ja geenejä. Kyseisissä tutkimuksissa osoitettiin myös ruskean rasvan aktiivisuuden korreloivan negatiivisesti henkilön iän ja painoindeksin kanssa.

Ruskean rasvakudoksen toimintaa on tutkittu paljon etenkin lämmöntuoton ja energiankulutuksen näkökulmasta, sillä painoindeksin käänteinen yhteys kudoksen aktiivisuuteen löydettiin jo varhain. Kudoksen aktiivisuuden on sittemmin havaittu olevan yhteydessä myös hyvään metaboliiseen terveyteen, minkä vuoksi nykyään tutkimukset keskittyvät paljon ruskean rasvan potentiaaliin metabolisten sairauksien ehkäisyssä ja hoidossa.

Tässä pro gradu -tutkielmassa tarkastellaan aktiivisen ruskean rasvakudoksen vaikutuksia elimistön glukoosimetaboliaan normaali- ja ylipainoisilla ihmisillä. Oletuksena on, että ruskea rasvakudos osallistuu merkittäväällä tavalla koko elimistön glukoosimetabolian säätelyyn. Tutkimuksen toivotaan antavan arvokasta tietoa glukoosimetabolian häiriöiden, kuten insuliiniresistenssin ja tyyppin II diabeteksen lääkkeettömien hoitokeinojen kehittämiseen tulevaisuudessa.

## **1.1 Ruskea rasvakudos ihmisillä**

### **1.1.1 Ruskean ja beigen rasvakudoksen kehitys**

Ruskea rasvakudos muodostuu yksilönkehityksessä preadiposyyteiksi kutsutuista esiastesoluista, jotka useimmiten ilmentävät Myf5-transkriptiotekijää. Näistä esiastesoluista voi kehittyä joko lihassoluja tai ruskeita rasvasoluja riippuen PRDM16-proteiinin toiminnasta. Kun proteiinia tuotetaan, kehittyy esiastesoluista ruskeita rasvasoluja, mutta ilman sitä esiasteista kehittyy lihassoluja. (Seale ym., 2008.) Ruskean rasvakudoksen suhteellinen määrä on korkeimmillaan vastasyntyneellä, jolloin sen paino voi olla jopa 5 % koko kehon painosta. Kudosta on tällöin suuria määriä erityisesti selässä lapaluiden välisellä alueella sekä munuaisten ympärillä. (Rogers, 2015.) Vastasyntyneellä ruskean rasvan rooli lämmöntuottajana on merkittävä, sillä luustolihakset eivät ole vielä tarpeeksi kehittyneet tuottamaan lämpöä värisemällä (Aherne & Hull, 1966).

Ruskean rasvakudoksen suhteellinen määrä vähenee lapsuuden ja nuoruuden aikana lihaksiston kehittyessä, tosin murrosikäisillä on havaittu hetkellistä ruskean rasvakudoksen lisääntymistä mahdollisesti sukupuolihormonien vaikutuksesta (Rogers, 2015). Ikääntyessä kudoksen määrä edelleen vähenee ja tutkimusten perusteella on arvioitu, että aktiivista ruskeaa rasvaa on noin 50 %:lla 20–35-vuotiaista aikuisista ja enää 10 %:lla yli 40-vuotiaista (Saito ym., 2009; Yoneshiro ym., 2011). On myös havaittu, että naisilla aktiivista ruskeaa rasvakudosta on yleensä enemmän kuin miehillä (Cypess ym., 2009). Aikuisilla ruskeaa rasvakudosta ei enää ole lapaluiden välissä, vaan sitä löytyy pääasiassa soliskuopista ja kaularangan alueelta, sekä vähemmissä määrin aortan, selkärangan, munuaisten, pernan ja maksan läheisyydestä (Cypess ym., 2015). Kudoksen ajatellaan sijaitsevan kyseisillä alueilla siksi, että se voisi turvata lämpimän veren virtausta aivoihin ja tärkeisiin sisäelimiin kylmissäkin olosuhteissa.

Ruskean rasvakudoksen nimi juontaa juurensa kudoksen rusehtavasta sävystä, joka johtuu kudoksen runsaasta verisuonituksesta ja rautapitoisten mitokondrioiden suuresta määrästä. Ruskeat rasvasolut ovat multilokulaarisia, eli ne ovat täynnä pieniä lipidipisaroita, kun taas valkoisissa rasvasoluissa on vain yksi suuri triglyseridejä sisältävä lipidipisara (Virtanen & Nuutila, 2015.) Lipidipisaroiden suuri määrä lisää niiden pinta-alaa, jolloin esimerkiksi aineenvaihduntatuotteiden siirtyminen pisaroiden ja mitokondrioiden välillä tehostuu.

Ruskean ja valkoisen rasvakudoksen lisäksi on olemassa myös beigeä rasvakudosta, joka sisältää sekä ruskean että valkoisen rasvakudoksen piirteitä. Beige rasvakudos sisältää brite-soluiksi ("brown in white") kutsuttuja multilokulaarisia rasvasoluja valkoisten rasvasolujen seassa. Nykykäsityksen mukaan suuri osa ihmisillä havaitusta aktiivisesta ruskeasta rasvasta varsinkin soliskuopissa muistuttaa enemmän beigeä kuin klassista ruskeaa rasvakudosta (Wu ym., 2012). Beigen rasvakudoksen ajatellaan olevan plastista kudosta, joka voi mahdollisesti erilaistua joko valkoiseksi tai ruskeaksi rasvaksi olosuhdevaatimusten mukaan. Esimerkiksi jyrksijöillä beigen rasvakudoksen "browning" eli muuttuminen ruskeaksi pitkäaikaisen kylmäämistuksen seurauksena on hyvin yleistä, minkä lisäksi myös valkoiset rasvasolut voivat muuttua ruskeiksi transdifferentioksi kutsutussa prosessissa (Cinti, 2009). Klassisista ruskeista rasvasoluista poiketen kaikki brite-solut eivät välttämättä kehity Myf5-geeniä ilmentävistä esiastesoluista ja termogeneesin eli lämmöntuotannon säätelymekanismit ovat jokseenkin erilaiset kuin ruskeissa rasvasoluissa (Xue ym., 2007). Sekä brite-solujen että ruskeiden rasvasolujen kehitysbiologia on kuitenkin hyvin monimutkaista sekä vielä osittain tuntematonta, minkä vuoksi solujen luokittelu esimerkiksi Myf5-geenin tai muiden kehitystä ohjaavien transkriptiotekijöiden perusteella ei ole aivan yksiselitteistä. Esimerkiksi rasvasolujen anatomisen sijainnin on huomattu olevan solujen kehitysbiologiaan vaikuttava tekijä. (Sanchez-Gurmaches & Guertin, 2014.)

### 1.1.2 Ruskean rasvakudoksen termogeneesi

Ympäristön matala lämpötila aktivoi voimakkaasti ruskeaa rasvakudosta. Kylmyys havaitaan ihon termoreseptoreilla, jotka välittävät informaation afferentteja perifeerisiä hermoja pitkin keskushermostoon. Informaatio käsitellään aivoissa hypothalamuksen preoptisella alueella, minkä seurauksena sympaattinen hermosto aktivoituu. (Morrison

ym., 2012.) Ruskeassa rasvakudoksessa sympaattiset hermopäätteet vapauttavat noradrenaliinia sekä adenosiiniksi hajoavaa adenosiinitrifosfaattia (ATP). Ruskea rasvakudos on runsaasti hermotettua, minkä vuoksi aktivoituminen on nopeaa ja tehokasta. Adenosiini sitoutuu ruskean rasvakudoksen adenosiini  $A_{2A}$ -reseptoreihin ja noradrenaliini sitoutuu adrenergisiin reseptoreihin, erityisesti  $\beta_3$ -AR-reseptoreihin. (Kooijman ym., 2015.) Reseptoriaktivaation myötä adenylaattisyklaasi (AC) aktivoituu solun sisällä. AC katalysoi syklisen adenosiinimonofosfaatin (cAMP) synteesin ATP:stä, mistä puolestaan seuraa proteiinikinaasi A:n (PKA) toiminnan aktivaatio. PKA säätelee lukuisia solunsisäisiä prosesseja, kuten termogeneesiä säätelevien geenien transkriptiota sekä solujen triglyseridivarastojen hydrolyysiä vapaiksi rasvahapoiksi (FFAs). Vapaat rasvahapot hapetetaan mitokondrioissa beetaoksidatiossa, jolloin muodostuu asetyylikoentsyymi A:ta, jonka sisältämät hiiliatomit (C) hapettuvat hiilidioksidiksi sitruunahappokierrossa ja vedyt (H) siirtyvät koentsyymeissä elektroninsiirtoketjuun ja oksidatiiviseen fosforylaatioon. Normaalisti oksidaatioreaktioissa vapautunut ja sähkökemialliseksi protonigradientiksi varastoitu energia otetaan talteen ATP-molekyylin muodossa, mutta ruskeissa rasvasoluissa näin ei tapahdu mitokondrioiden sisäkalvolla sijaitsevan irtikytkijäproteiinin (UCP1) toiminnan vuoksi. UCP1 kuljettaa protoneita mitokondrion sisäkalvon läpi protonigradientin mukaisesti, jolloin niihin varastoitunut energia vapautuu lämpönä. Energian varastoinnin sijaan ruskeat rasvasolut siis kuluttavat sitä UCP1-proteiinin toiminnan ansiosta. Prosessi on nimeltään non-shivering-termogeneesi, joka viittaa lämmön tuottamiseen ilman lihasvärinää. (Cannon & Nedergaard, 2004.) Sekä ruskeat rasvasolut että brite-solut kykenevät tuottamaan lämpöä, sillä niissä molemmissa on runsaasti mitokondrioita, jotka ilmentävät irtikytkijäproteiinia (Lidell ym., 2013). Termoneutraaleissa olosuhteissa solunsisäiset puriininukleotidit inhiboivat UCP1-proteiinia, minkä vuoksi termogeneesiä ei tapahdu ilman kylmäältistusta (Nicholls, 2006).

Ruskean rasvakudoksen endogeeniset säätelymekanismit ovat vielä osittain tuntemattomia, mutta säätelyyn tiedetään sympaattisen hermoston lisäksi osallistuvan lukuisia hormoneja sekä tulehdusvälittäjäaineita. Esimerkiksi kilpirauhashormonit ovat tärkeitä ruskean rasvakudoksen kehittymiselle ja toiminnalle, sillä ne lisäävät irtikytkijäproteiinin ilmentymistä sekä aktivoivat sympaattisen hermoston toimintaa. Glukoosin sisäänoton ruskeaan rasvakudokseen on havaittu lisääntyvän kilpirauhasen liikatoiminnan eli hypertyreoosin aikana, minkä lisäksi koko elimistön energiankulutus on yhteydessä veressä kiertävien kilpirauhashormonien määrään. (Lahesmaa ym., 2014.)



Endokannabinoidijärjestelmä puolestaan vaikuttaa ruskean rasvan toimintaan inhiboivasti kudoksen ilmentämien tyyppin 1 ja tyyppin 2 endokannabinoidireseptorien (CB1 ja CB2) välityksellä. Kylmäältistuksen aikana CB1-reseptorien määrän on huomattu lisääntyvän sekä ruskeassa rasvakudoksessa että niillä aivoalueilla, jotka säätelevät kudoksen sympaattista aktivaatiota. (Lahesmaa ym., 2018.) Inhiboiva vaikutus mitä ilmeisimmin estää irtikytkijäproteiinin liiallista aktivoitumista ja täten hillitsee termogeneesiä.

Toisin kuin pienillä nisäkkäillä, joilla ruskean rasvan rooli lämmöntuottajana on elintärkeä erityisesti talvihorroksen aikana, aikuisilla ihmisillä ruskean rasvan merkitys on pieni verrattuna lihasvärinällä tuotettavaan lämpöön. Ihmistutkimuksissa on kuitenkin havaittu, että ruskean rasvakudoksen aktiivisuus on talvella suurempaa kuin kesällä, eli kudoksella saattaa olla oma osuutensa elimistön lämmönsäätelyssä (Saito ym., 2009). Lämmöntuotto ruskealla rasvakudoksella voi olla myös kestävämpi tapa pitkään jatkuvassa kylmäältistuksessa, sillä lihasvärinä vaatii runsaasti energiaa eikä sitä voida jatkaa yhtäjaksoisesti kauaa lihasten lopulta väsyessä.

### 1.1.3 Ruskean rasvakudoksen energia-aineenvaihdunta

Termogeneesin aktivoitua ruskeat rasvasolut ottavat energiaravintoaineita sekä solunsisäisistä triglyseridivarastoista että systeemisestä verenkierrosta. Jyrsijöillä ruskeiden rasvasolujen tiedetään suosivan ensisijaisesti rasvahappoja (Ma & Foster, 1986) mutta ihmisillä solut hyödyntävät energianlähteenään myös glukoosia. Kudoksen energia-aineenvaihdunta ihmisillä on vielä osittain epäselvää, minkä vuoksi ei olla varmoja siitä, kuinka suuri osuus glukoosilla on verrattuna rasvahappoihin.

Ruskeissa rasvasoluissa adenyylaattisyklaasin aktivaation indusoima cAMP-signaali johtaa useiden lipolyyttisten entsyymien, kuten rasva-triglyseridilipaasin (ATGL), hormonisensitiivisen lipaasin (HSL) sekä monoglyseridilipaasin (MGL) aktivoitumiseen, minkä seurauksena rasvasolujen triglyseridivarastoista hajotetaan vapaita rasvahappoja (Duncan ym., 2007). Vapaat rasvahapot toimivat termogeneesin energianlähteinä ja aktivoivat irtikytkijäproteiinia (Cannon & Nedergaard, 2004). Solunsisäisten triglyseridivarastojen huetessa rasvahappoja otetaan kudokseen verenkierrosta, minkä lisäksi niitä voidaan muokata glukoosista *de novo* -lipogeneesissä (Townsend & Tseng, 2014). Termogeneesin aktivoituminen käynnistää lipolyysin myös valkoisessa

rasvakudoksessa, minkä vuoksi verenkiertoon siirtyy runsaasti vapaita rasvahappoja hyödynnettäväksi. Viimeaikaisten tutkimusten valossa vaikuttaa siltä, että termogeneesin merkittävimpänä energianlähteenä toimivat nimenomaan valkoisesta rasvakudoksesta vapautuvat rasvahapot (Shin ym., 2017; Schreiber ym., 2017). Terveillä hoikilla ihmisillä kylmäältistuksen on havaittu lisäävän rasvahappojen sisäänottoa ruskeassa rasvakudoksessa (Saari ym., 2020; Blondin ym., 2017).

Glukoosia otetaan sisään ruskeaan rasvakudokseen verenkierrosta GLUT1 ja GLUT4 glukoosikuljettimilla. Ruskeassa rasvakudoksessa aktiivisemmin toimiva GLUT4 on insuliiniriippuvainen, minkä vuoksi glukoosin sisäänottoa (BAT GU) voidaankin lisätä insuliinistimulaatiolla jopa viisinkertaiseksi basaalitasoon verrattuna (Orava ym., 2011). Solun sisällä glukoosimolekyylit fosforyloidaan glukoosi-6-fosfaatiksi ja edelleen kahdeksi pyruvaattimolekyyliksi glykolyysissä. Pyruvaatit hapetetaan sitruunahappokierrossa, jolloin muodostuu energiaa termogeneesiä varten. Mikäli rasvasolut eivät tarvitse energiaa välittömästi, voidaan glukoosi-6-fosfaatti myös varastoida soluun glykokeeninä. Glukoosista voidaan myös muokata rasvahappoja tai se voidaan muuttaa glyseroli-3-fosfaatiksi ja hyödyntää myöhemmin triglyseridisynteesissä. (Townsend & Tseng, 2014.) Akuutin kylmäältistuksen on havaittu terveillä hoikilla ihmisillä lisäävän ruskeassa rasvassa verenkiertoa sekä glukoosin sisäänottoa jopa 12 kertaiseksi basaalitasoon verrattuna (Orava ym., 2011; Virtanen ym., 2009). Kun verenkierron tarve kasvaa ruskeassa rasvakudoksessa aktivaation myötä, ruskeat rasvasolut erittävät VEGF-A:ta sekä typpioksidia, jotka lisäävät kudoksen verisuonitusta aktivoimalla angiogeneesiä ja vaskulogeneesiä (Xue ym., 2009; Sun ym., 2014).

Tutkimukset ovat osoittaneet, että ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus on yhteydessä koko elimistön suureen energiankulutukseen. Tutkimustulokset tosin ovat hyvin vaihtelevia sen osalta, kuinka paljon ruskean rasvan termogeneesi voi kuluttaa energiaa kilokaloreiksi muutettuna. Osassa tutkimuksista maksimaalisen energiankulutuksen kylmäältistuksessa arvioitiin olevan 10–20 kcal päivässä (Muzik ym., 2012; U Din ym., 2016), kun taas toisissa tutkimuksissa tulokseksi saatiin 100–130 kcal (Marlatt ja Ravussin, 2017; Ouellet ym., 2012; Virtanen ym., 2009). Joka tapauksessa ruskean rasvakudoksen pienen massan takia kokonaisenergiankulutus jää melko vähäiseksi verrattuna esimerkiksi lihasten energiankulutukseen.

## 1.2 Metaboliset sairaudet ja ruskea rasvakudos

### 1.2.1 Ylipaino ja metabolinen oireyhtymä

Ylipaino ja lihavuus sekä niihin liittyvät metaboliset sairaudet ovat nykyään merkittäviä kansanterveydellisiä ongelmia. Ylipainon esiintyvyys on lisääntynyt muutaman viime vuosikymmen aikana merkittävästi sekä aikuisilla että lapsilla ja vuonna 2016 ylipainoa arvioitiin koko maailmassa olevan yli 2 miljardilla ihmisellä, joista yli neljäsosalla oli lihavuutta (WHO, 2016). Vuonna 2017 suomalaisista yli 30-vuotiaista naisista 63 %:lla oli ylipainoa ja 28 %:lla lihavuutta ja miehillä vastaavat luvut olivat 72 % ja 26 %. Vyötärölihavuutta esiintyi 46 %:lla naisista ja miehistä. Ylipainon määrittelemiseksi käytetään usein painoindeksiä (engl. body mass index, BMI), joka lasketaan jakamalla henkilön paino pituuden neliöllä. Painoindeksillä voidaan arvioida ylipainosta aiheutuvien terveysongelmien riskiä, sillä ylimääräisen rasvakudoksen tiedetään olevan yhteydessä moniin kroonisiin sairauksiin. Painoindeksille on määritetty seuraavat raja-arvot; normaali paino ( $BMI 18.5 \leq 24.9 \text{ kg/m}^2$ ), ylipaino ( $BMI 25 \leq 29.9 \text{ kg/m}^2$ ) ja lihavuus ( $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ).

Vyötärölihavuus on yksi metabolisen oireyhtymän tunnusmerkeistä. Muita merkkejä ovat veren kohonnut triglyseridiarvot, kohonnut verenpaine, korkea paastoverensokeri sekä veren pienentynyt HDL-kolesterolin pitoisuus. Mikäli kolme edellä mainituista viidestä kriteeristä toteutuu, on henkilöllä suurentunut riski useisiin vakaviin terveysongelmiin, kuten sydän- ja verisuonisairauksiin, aivohalvaukseen tai tyypin II diabetekseen. (Mustajoki, 2021.) Perinnölliset tekijät voivat vaikuttaa metabolisen oireyhtymän kehittymiseen, mutta merkittävimpana syynä pidetään kuitenkin epäterveellisiä elämäntapoja. Liikunnan puute sekä länsimainen runsaasti sokeria, suolaa ja tyydyttyneitä rasvoja sisältävä ruokavalio lisäävät elimistön rasvamassaa sekä altistavat veren rasva- ja glukoosiarvojen häiriöille. Myös ikääntymisen tiedetään lisäävän metabolisen oireyhtymän tunnusmerkkien ilmenemistä. (Laakso, 2005.)

Ylipainoisilla henkilöillä ruskean rasvakudoksen toiminnan on havaittu olevan poikkeavaa verrattuna normaalipainoisiin ja kudoksen aktiivisuuden on osoitettu olevan kääntäen verrannollinen painoindeksiin (van Marken Lichtenbelt ym., 2009). Lihavuudesta kärsivillä henkilöillä kylmälämmityksen tai insuliinistimulaation aktivoima glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen on merkittävästi vähäisempää kuin

normaalipainoisilla (Orava ym., 2013). Lihavuudessa myös rasvahappojen sisäänotto on vähäisempää sekä kylmältistuksessa että huoneenlämmössä (Saari ym., 2020). Erot kudoksen metabolisessa aktiivisuudessa voivat mahdollisesti selittyä esimerkiksi sillä, että ylipainoisilla ruskean rasvakudoksen tilalla saattaa olla pääasiassa valkoista rasvakudosta tai inaktiivista beigeä rasvakudosta. Jyrsijöillä tehdyissä tutkimuksissa on huomattu, että ruskean rasvan vähentynyt aktiivisuus aiheuttaa ylipainoa sekä heikentää veren glukoosi- ja rasva-arvoja (Cannon & Nedergaard, 2009), kun taas lisääntynyt aktiivisuus voi auttaa ehkäisemään kyseisiä ongelmia (Ghorbani ym., 1997; Harms & Seale, 2013).

On edelleen epäselvää, onko ihmisillä ruskean rasvan heikentynyt toiminta seurausta ylipainosta, vai onko se kenties osasyynä ylipainon kehittymiselle. On kuitenkin huomattu, että painonpudotus sekä perinteisillä menetelmillä että laihdutusleikkauksella saattaa vaikuttaa ruskean rasvakudoksen toimintaan positiivisesti (Dadson ym., 2018). Liikunta- ja ravitsemusohjauksen avulla laihtuneilla henkilöillä ruskean rasvan aktiivisuus lisääntyi kylmältistuksessa, kun painoa oli pudonnut yli 10 % (Orava ym., 2013) ja mahalaukun pantaleikkauksen jälkeen laihtuneilla henkilöillä sama vaikutus nähtiin vuoden kuluttua leikkauksesta painon pudottua noin 29 % (Vijgen ym., 2012). Laihtumisen vaikutus perustuu osittain ruskeiden rasvasolujen sisältämien triglyseridien vähenemiseen, joka elvyttää mitokondrioiden toimintaa soluissa ja kiihdyttää siten solujen aineenvaihduntaa.

### 1.2.2 Glukoosimetabolian häiriöt

Elimistön glukoosihomeostasialla tarkoitetaan tasapainotilaa, jossa veren glukoosipitoisuus pyritään pitämään aina tietyllä vaihteluvälillä negatiivisella palautesäätelyllä. Säätelyyn osallistuu lukuisia elimiä sekä hormoneja, joista tärkeimpiä ovat maksa sekä haiman erittämät hormonit insuliini ja glukagoni. Veren glukoosipitoisuuden noustessa ruokailun jälkeen haiman endokriiniset  $\beta$ -solut alkavat tuottaa insuliinia, joka lisää elimistön eri kudoksissa glukoosikuljettimien ilmenemistä solukalvoilla lisäten glukoosin kuljetusta verenkierrosta soluihin soluhengityksen energianlähteeksi. Samanaikaisesti maksassa ja lihaksissa muokataan ylimääräisestä glukoosista glykogeeniä glykogeneesiksi kutsutussa prosessissa. Glukoosin sisäänotto maksaan (engl. hepatic glucose uptake, HGU) insuliinin stimuloimana lisääntyy merkittävästi ruokailun jälkeen, sillä jopa kolmasosa aterian sisältämästä glukoosista

siirtyy maksaan käsiteltäväksi (Cherrington, 2007). Paastotilanteissa puolestaan veren glukoosipitoisuus laskee, jolloin haiman alfasolut alkavat tuottaa glukagonia. Glukagoni toimii insuliinin vastavaikuttajana aktivoiden glykogenolyysiä eli glykogeenivarastojen muokkaamista takaisin glukoosiksi, jolloin veren glukoosipitoisuus nousee. Glukagoni myös aktivoi maksassa sekä muissa kudoksissa glukoneogeneesiä, eli glukoosin uudistuotantoa muista energiaravintoaineista, kuten rasva- ja aminohapoista. (Costanzo, 2018.)

Veren normaali glukoosipitoisuus paastossa on alle 6 mmol/l ja yli 7 mmol/l viittaa diabetekseen. Mikäli glukoosipitoisuus on 6–7 mmol/l, puhutaan prediabeteksestä eli tilanteesta, jossa verensokeri on koholla, mutta varsinaista sairautta ei vielä ole. Prediabetes voi kehittyä oireettomana useiden vuosien ajan ja hoitamattomana se johtaa useimmiten tyypin II diabeteksen puhkeamiseen. Geneettinen alttius voi lisätä riskiä prediabeteksen ja tyypin II diabeteksen kehittymiseen, mutta pääasiallisena syynä on kuitenkin elämäntavoista johtuva sisäelinten ympärille kerääntyvä viskeraalirasva, joka näkyy vyötärölihavuutena. (Mustajoki, 2021.) Ylimääräinen rasvakudos aiheuttaa useiden mekanismien kautta elimistön eri kudosten insuliiniherkkyyden heikkenemistä, jolloin haiman pitää erittää enemmän insuliinia glukoosin poistamiseksi verenkierrosta, eli kehittyä insuliiniresistenssiksi kutsuttu tila. Lopulta haiman  $\beta$ -solut eivät pysty vastaamaan insuliinin tarpeeseen vaan verensokeri alkaa kohota. Osalla diabetesta sairastavista kohonnut verensokeri voi ajan mittaan myös vahingoittaa  $\beta$ -soluja, jolloin niiden määrä ja insuliinieritys vähenee ja verensokerin säätely vaikeutuu entisestään. (Weyer ym., 1999.)

Insuliiniresistenssin kehittymiseen vaikuttavat useat rasvakudoksen erittämät hormonit ja välittäjäaineet. Esimerkiksi maksan insuliiniherkkyyttä lisäävän rasvakudoksesta erittyvän adiponektiinin erityksen on havaittu olevan vähäisempää henkilöillä, joilla on ylipainoa tai tyypin II diabetes (Arita ym., 1999). Maksan insuliiniresistenssi on erityisen haitallista, sillä maksa on merkittävä elin koko elimistön glukoosimetabolian säätelyssä. Insuliiniresistenssin myötä glukoosia ei siirry tarpeeksi tehokkaasti maksaan, jolloin veren glukoosipitoisuus pysyy koholla pitkiä aikoja aterioiden jälkeen. Insuliini toimii myös maksassa glukoneogeneesiä rajoittavana tekijänä, joten maksasolujen muuttuessa resistenteiksi endogeeninen glukoosituotanto (engl. endogenous glucose production, EGP) maksassa ei pysähdy insuliinin vaikutuksesta (Mittelman ym., 1997). Glukoneogeneesin lisääntyminen nostaa edelleen veren glukoosipitoisuutta ja aiheuttaa maksan rasvoittumista.

Myös rasvakudos voi muuttua insuliiniresistentiksi, minkä seurauksena adiposyytit eivät reagoi insuliinin lipolyysiä estävään signaaliin. Lipolyysissä rasvakudoksen sisältämiä triglyseridejä hydrolysoidaan glyseroliksi ja vapaiksi rasvahapoiksi, mikä johtaa vapaiden rasvahappojen lisääntymiseen verenkierrossa. Tämä lisää rasvan kertymistä useisiin kudoksiin, kuten maksaan, haimaan ja lihaksiin lisäten niiden insuliiniresistenssiä. Vapaat rasvahapot myös lisäävät epäsuorasti glukoneogeneesiä maksassa. (Samuel & Shulman 2012.) Lihavuudessa makrofagien määrä rasvakudoksessa lisääntyy, mikä viittaa rasvakudoksen sisäiseen tulehdustilaan. Tulehdussolut erittävät proinflammatorisia välittäjäaineita, kuten tuumorinekroositekijä  $\alpha$ :aa (TNF- $\alpha$ ), leukotrieni B4:ää (LTB4) sekä monosyyttien kemotaktista proteiini 1:tä (MCP-1), jotka lisäävät insuliiniresistenssiä lihaksissa ja maksassa. (Osborn & Olefsky 2012.)

Tyypin II diabeteksen esiintyvyys on yleistynyt maailmanlaajuisesti 1900-luvun loppupuolelta lähtien erityisesti länsimaissa. Vuonna 2017 maailmassa arvioitiin olevan 462 miljoonaa tyypin II diabetesta sairastavaa ihmistä, joka muodostaa yli 6 % koko maailman väestöstä (Khan ym., 2020). Suomessa puolestaan diagnosoituja on vuoden 2020 arvioiden mukaan noin 400 000, eli yli 7 % väestöstä (Diabetesliitto, 2020). Diagnosoitujen diabetestapausten lisäksi suuri määrä ihmisiä sairastaa prediabetesta tai diabetesta tietämättään, joten todelliset lukumäärät ovat raportoituja suurempia.

Aiemmin tyypin II diabeteksen vakiintuneena nimenä käytettiin myös aikuistyyppin diabetesta, sillä siihen sairastuttiin useimmiten vasta myöhemmällä iällä, mutta nykyään sitä todetaan yhä enemmän myös nuorilla ja lapsilla (Mihir ym., 2023). Riski sairastumiseen kuitenkin kasvaa merkittävästi iän myötä ja suurin esiintyvyys onkin yli 70-vuotiailla, joista maailmanlaajuisesti arviolta 22 % sairastaa tyypin II diabetesta. 50–69-vuotiaista sairaiden osuus on noin 15 % ja 15–49-vuotiaista hieman yli 4 %. Sairaus on lähes yhtä yleinen sekä naisilla että miehillä ja sen yleisin puhkeamisikä on keskimäärin 55 vuotta. (Khan ym., 2020.) Tyypin II diabeteksen hoitokustannukset Suomessa vuonna 2017 olivat 2,5 miljardia euroa, joten sairaus on myös kansantaloudellisesti merkittävä ongelma (Kurkela ym., 2022). Tutkimukset ovat osoittaneet, että suuri osa kustannuksista syntyy riittämättömän hoidon seurauksena kehittyneistä diabeteksen liitännäissairauksista, joista kokonaiskustannuksiltaan merkittävimpiä ovat sydän- ja verisuonisairaudet (Einarson ym., 2018; Kurkela ym., 2022).

### 1.2.3 Ruskea rasvakudos metabolisen terveyden edistämisessä

Ruskean rasvakudoksen potentiaali lihavuuden sekä metabolisten sairauksien ehkäisyssä ja hoidossa on kasvavan kiinnostuksen kohteena. Useat tutkimukset ovat osoittaneet, että aktiivinen ruskea rasvakudos on yhteydessä kokonaisvaltaisesti hyvään metaboliseen terveyteen (Bhatt ym., 2017; Bartelt ym., 2021). Ihmiset, joilla on aktiivista ruskeaa rasvakudosta, ovat useimmiten fenotyypiltään hoikkia ja heillä on vähän sisäelinrasvaa (Saito ym., 2009; Wang ym., 2015). Lisäksi ruskean rasvan aktiivisuus on yhdistetty veren mataliin triglyseridipitoisuuksiin (U Din ym., 2017), joka perustuu rasvahappojen hyödyntämiseen termogeneesin energianlähteenä. Ruskean rasvan kyky poistaa triglyseridejä verenkierrosta voi mahdollisesti ehkäistä ateroskleroottisen plakin muodostumista verisuoniin ja täten pienentää riskiä sairastua sydän- ja verisuonisairauksiin (Bartelt ym., 2011; Berbeé ym., 2015.)

Kylmäältistuksen aikana ruskea rasvakudos hyödyntää termogeneesin energiaksi myös runsaasti glukoosia verenkierrosta, minkä vuoksi kudoksen aktivointi voi mahdollisesti hillitä hyperglykemiaa ja vaikuttaa normaalin glukoosihomeostasian ylläpitoon (Carpentier ym., 2018). Ruskean rasvakudoksen korkean aktiivisuuden onkin havaittu olevan yhteydessä veren mataliin glukoosi- ja insuliinipitoisuuksiin (Zhang ym., 2013), minkä lisäksi on viitteitä siitä, että aktiivinen ruskea rasvakudos voisi parantaa useiden kudosten insuliiniherkkyyttä esimerkiksi lisäämällä adiponektiinin eritystä rasvakudoksesta (Lee ym., 2014). Tyypin II diabeteksessa glukoosin sisäänoton ruskeaan rasvaan on havaittu olevan vähäisempää kuin terveillä verrokeilla, vaikka rasvahappojen sisäänotossa ei ole havaittu eroa (Blondin ym., 2015). Hiirillä tehdyissä tutkimuksissa puolestaan on havaittu, että lihaviin hiirten glukoosinsieto sekä systeeminen insuliiniherkkyys paranivat, kun niille siirrettiin ruskeaa rasvakudosta terveiltä hiiriltä (Liu ym., 2013; Stanford ym., 2013).

Ruskean rasvan aktiivisuuteen liittyvien positiivisten vaikutusten ajatellaan osittain johtuvan kudoksen erittämistä batokiineiksi kutsutuista yhdisteistä. Batokiinit (engl. brown adipokines) ovat monimuotoinen ryhmä erilaisia peptidejä, lipidejä sekä miRNA-molekyylejä, jotka säätelevät autokriinisesti ruskeiden rasvasolujen toimintaa, mutta vaikuttavat myös parakriinisesti muihin läheisiin soluihin sekä endokriinisesti verenkierron kautta elimistön lukuisiin eri kudoksiin. Batokiineja on jo tunnistettu useita kymmeniä erilaisia, mutta niiden toimintamekanismit sekä mahdollinen lääkinnällinen käyttö vaativat vielä paljon tutkimusta. (Villarroya ym., 2017.)

Tutkimustulokset rohkaisevat miettimään, voisiko ruskean rasvan aktivoinnista olla apua insuliiniresistenssin tai tyypin II diabeteksen ehkäisyssä tai hoidossa. Ihmisillä ruskean rasvakudoksen vaikutukset glukoosimetaboliaan ovat kuitenkin vielä osittain tuntemattomia ja aiheesta tarvitaan paljon lisää tutkimuksia. Koska ruskean rasvan aktiivisen toiminnan on havaittu lisäävän kokonaisenergiankulutusta, on myös pohdittu kudoksen aktivoinnin hyödyntämistä painonhallinnassa. Tutkimuksissa on arvioitu, että aktiivinen ruskea rasvakudos voi polttaa rasvaa jopa neljän kilogramman verran vuodessa (Virtanen ym., 2009). Laihduttamisen kannalta vaikutus ei ole merkittävä, mutta onnistuneen painonpudotuksen jälkeen ruskean rasvan aktivointi saattaisi edistää tavoitepainossa pysymistä.

Ruskean rasvakudoksen kaikki metaboliset hyödyt on toistaiseksi osoitettu vain ihmisillä, joiden elimistössä on jo ennestään aktiivista ruskeaa rasvakudosta. Näin ollen olisi tärkeää saada lisättyä aktiivisen ruskean rasvan määrää ylipainoisilla ja insuliiniresistenteillä sekä muilla sellaisilla ihmisryhmillä, jotka hyötyisivät metabolisista vaikutuksista eniten. (Laurila ym., 2020.) Mikäli tällaisilla ihmisillä ruskean rasvan määrää tai aktiivisuutta saataisiin lisättyä esimerkiksi toistuvien kylmäaltistuksien seurauksena, olisi se helposti saavutettavissa oleva lääkkeetön työkalu metabolisen terveyden edistämiseen. Tutkimuksissa onkin havaittu, että kylmäaltistus kymmenenä peräkkäisenä päivänä lisäsi ruskeassa rasvassa glukoosin sisäänottoa sekä paransi luustolihasen insuliiniherkkyyttä henkilöillä, joilla oli lihavuutta (Hanssen, 2016; van der Lans, 2013).

Eräs tehokas kylmäaltistuksen muoto on avantouinti, jonka suosio on viime vuosina kasvanut räjähdysmäisesti, ja pelkästään Suomessa kymmenet tuhannet harrastajat ylistävät sen terveyshyötyjä. Myös tutkimustulokset viittaavat siihen, että avantouinti voisi vaikuttaa positiivisesti yleiseen hyvinvointiin esimerkiksi parantamalla immuunipuolustusta (Brenke, 1990), kohentamalla veren rasva-arvoja (Kralova ym., 2015) sekä alentamalla verenpainetta (Huttunen ym., 2000). Avantouinnin on myös havaittu vähentävän masennus- ja ahdistusoireita, joten sillä saattaa olla myös mielen hyvinvointia edistävä vaikutus (van Tulleken ym., 2018). Lisäksi säännöllinen avantouinti voi vaikuttaa myös glukoosimetabolian säätelyyn, sillä sen on havaittu pienentävän veren insuliinipitoisuutta lähes 50 % (Hermanussen ym., 1995). On mahdollista, että veren insuliinipitoisuutta pienentävä vaikutus liittyy ruskean rasvakudoksen aktivoitumiseen, sillä tutkimusten mukaan avantouimareilla on useimmiten elimistössään aktiivista ruskeaa rasvakudosta (Søberg ym., 2021).



Avantouintiin liittyy kuitenkin myös riskejä eikä sitä voida suositella kaikille, sillä esimerkiksi sydän- ja verisuonitauteja sairastaville kylmän aiheuttama stressireaktio voi olla vaarallinen. Ruskeaa rasvaa saa kuitenkin aktivoitua lievemmilläkin kylmältistuksella ja esimerkiksi huoneen lämpötilan laskeminen muutamalla asteella voi jo olla hyödyllistä. (Laurila ym., 2020.)

## 1.3 Tutkimusmenetelmiä

### 1.3.1 PET-kuvantaminen

PET-kuvantaminen eli positroniemissiotomografia on kliinisessä lääketieteessä nopeasti yleistynyt isotooppikuvausmenetelmä, jolla saadaan tutkittua elimistön metabolisia prosesseja. Kuvauksessa hyödynnetään tutkimushenkilön verenkiertoon tai hengityselimistöön annosteltavia radioaktiivisia merkkiaineita, jotka matkivat elimistössä luontaisesti esiintyviä biologisia yhdisteitä. PET-kuvantamisesta on tullut arvokas työkalu ruskean rasvakudoksen tutkimuksessa, sillä se mahdollistaa kudoksen molekulaaristen toimintojen tarkastelun kajoamattomasti *in vivo*. (Anand ym., 2009.) Nykyään kaikki kuvaukset tehdään yhdistelmälaiteilla, joissa PET-kameraan on yhdistetty joko tietokonetomografia- (engl. computed tomography, CT) tai magneettikuvauslaite (engl. magnetic resonance imaging, MRI), joka antaa samanaikaisesti tarkan käsityksen kuvattavan alueen anatomiasta. PET-kuvauksesta saatua dataa voidaan käsitellä matemaattisilla malleilla, jolloin voidaan määrittää esimerkiksi eri kudoksissa merkkiaineen sisäänottoa verenkierrosta tai sitoutumista reseptoreihin. (Janatuinen & Kempainen, 2020.)

PET-kuvauksessa käytettävät merkkiaineet ovat lyhytikäisiä positronisäteileviä isotooppeja, jotka tuotetaan hiukkaskiihdyttimessä. Merkkiaine vapauttaa elimistössä hajotessaan positronin, joka kohdatessaan elektronin jakautuu kahdeksi vastakkaisiin suuntiin kulkevaksi gammafotoniksi. Nämä annihilaatiotapahtumat havaitaan PET-kameralla, jolloin voidaan rekisteröidä mihin merkkiainetta on kertynyt ja muodostaa tilanteesta 3D-kuva. Merkkiainekertymät näkyvät PET-kuvissa selkeinä aktiivisuusalueina, joiden tarkka sijainti elimistössä määritetään yhdistämällä PET-kuva CT- tai MRI-kuvaan. (Turkington, 2001.) PET-kuvantamisessa usein käytettyjä

merkkiaineita ovat [ $^{15}\text{O}$ ] H<sub>2</sub>O, [ $^{18}\text{F}$ ] FDG ja [ $^{18}\text{F}$ ] FTHA, joilla voidaan tutkia esimerkiksi kudosten energia-aineenvaihduntaa ja verenkiertoa.

[ $^{18}\text{F}$ ] FDG eli [ $^{18}\text{F}$ ] -fluorodeoksiglukoosi on elimistössä glukoosin tavoin käyttäytyvä glukoosianalogi. Merkkiaine siirtyy soluihin samojen kuljettimien välityksellä kuin glukoosi ja solun sisään päästyään se fosforyloidaan  $^{18}\text{FDG-6}$ -fosfaatiksi. Tämän jälkeen molekyyli ei kuitenkaan siirry glykolyysiin, vaan se kertyy solun sisälle lopulliseen hajotukseensa saakka. Kun verenkiertoon injektoidun merkkiaineen aktiivisuus tiedetään, voidaan PET-kuvista määrittää FDG:n sisäänoton nettotasoa (Ki) eri kudoksissa Patlakin metodilla (Patlak & Blasberg, 1985). Ki-arvo kerrotaan plasman glukoosikonsentraatiolla ja saatu tulo jaetaan LC-arvolla (engl. lumped constant), joka on glukoosin ja glukoosianalogin väliset kuljetus- ja fosforylaatioerot huomioon ottava kudoksohtainen vakio (Sokoloff ym., 1977). Patlakin metodilla merkkiaineen sisäänotto saadaan muutettua kuvaamaan glukoosin sisäänottoa kudokseen, joka kertoo kudoksen metabolisesta aktiivisuudesta. Metodi on tarkka ja sitä hyödynnetään paljon ruskean rasvakudoksen tutkimuksissa.

Kudosten rasvahappoaineenvaihduntaa puolestaan voidaan tutkia [ $^{18}\text{F}$ ] FTHA merkkiaineella. [ $^{18}\text{F}$ ] FTHA eli 14(R, S) -[ $^{18}\text{F}$ ] fluoro-6-thia-heptadekanoidihappo on palmitiinihappoa eli pitkäketjuista tyydyttyntä rasvahappoa matkiva merkkiaine, joka siirtyy soluihin samalla tavalla kuin luonnolliset esteröitymättömät rasvahapot. Solujen sisällä merkkiaine käy osittain läpi  $\beta$ -oksidation, minkä jälkeen molekyyli kertyy mitokondrioihin. Näin ollen PET-kuvissa näkyvä [ $^{18}\text{F}$ ] FTHA aktiivisuuskertymä kuvastaa rasvahappojen sisäänottoa, metaboloitua sekä varastointia kudoksessa (DeGrado ym., 1991). Myös rasvahappoanalogia hyödynnetään ruskean rasvan tutkimuksissa, sillä rasvahappojen tiedetään olevan merkittävä energianlähde termogeneesille.

Energia-aineenvaihdunnan lisäksi PET-kuvauksella voidaan tarkastella esimerkiksi kudosten verenkiertoa. Tällöin hyödynnetään [ $^{15}\text{O}$ ] H<sub>2</sub>O -merkkiainetta eli ”radiovettä”, joka glukoosi- ja rasvahappoanalogien tavoin injektoidaan suoraan verenkiertoon. Radiovedellä voidaan määrittää esimerkiksi ruskean tai valkoisen rasvakudoksen sekä lihaskudoksen perfuusiota, eli tutkittavan alueen läpi virtaavan veren määrää tietyssä aikayksikössä (Orava ym., 2011; 2013). Ruskeaa rasvakudosta tutkittaessa radiovettä käytetään usein samassa kuvauksessa glukoosi- tai rasvahappoanalogin kanssa, sillä energiaravintoaineiden lisääntynyt sisäänotto voi usein korreloida kudoksen kiihtyneen verenkierron kanssa.

PET-kuvantaminen on mahdollistanut ruskean rasvan tutkimustiedon nopean lisääntymisen ja kudoksen fysiologiasta selviää jatkuvasti uusia yksityiskohtia. Monista hyödyistään huolimatta PET-kuvantamisessa on kuitenkin myös rajoituksensa. Radioaktiivisten isotooppien injektointi altistaa tutkimushenkilöt ionisoivalle säteilylle, minkä vuoksi samalle henkilölle tehtävien PET-kuvausten määrä on rajallinen. Ruskean rasvan tutkimuksissa käytettävien merkkiaineiden aiheuttamat säteilyrasitukset ovat käytännössä merkityksettömiä terveille ihmisille, mutta säteilyturvakeskuksen asettama lainsäädäntö on Suomessa hyvin tiukkaa yksilöiden säteilysuojan turvaamiseksi.

PET-kuvantamisella ei myöskään voida tutkia kuin yhtä biologista prosessia kerrallaan. Tämä johtuu PET-kameran kyvyttömyydestä erotella eri merkkiaineiden aiheuttamia annihilaatiotapahtumia, jolloin kaikkien merkkiaineiden aktiivisuuskertymät näkyvät kuvissa samanlaisina. Useita merkkiaineita voidaan kuitenkin tutkia peräkkäin edellisen hajottua elimistössä, sillä esimerkiksi radioveden puoliintumisaika on vain 2 minuuttia. Lyhyiden puoliintumisaikojen vuoksi merkkiaineita ei voida kuljettaa pitkiä matkoja, vaan ne on tuotettava kuvauslaitteiden läheisyydessä. Kuvantamismenetelmän yksi heikkous on myös PET-kameran rajoittunut resoluutio, minkä vuoksi esimerkiksi hyvin pienikokoisia ruskean rasvan kertymiä ei pystytä erottelemaan.

### 1.3.2. Glukoosimetabolian mittaaminen

Elimistön glukoosimetaboliaa voidaan tutkia useilla eri menetelmillä, joista kenties yleisin on sokerirasitustesti. Sokerirasitustestiä hyödynnetään paljon diabeteksen seulonnassa, sillä sen avulla saadaan tietoa elimistön kapasiteetista käsitellä suuria määriä glukoosia. Ennen testiä henkilön tulee paastota 8–12 tuntia, jotta verensokeri ei ole koholla edellisten aterioiden jäljiltä. Testissä tutkimushenkilö juo 250 ml liuosta, joka sisältää 75 g glukoosia, minkä jälkeen elimistön vastetta seurataan kaksi tuntia ottamalla verinäytteitä puolen tunnin välein. Kaikista verinäytteistä mitataan glukoosi- ja insuliinipitoisuudet. (Tunturi, 2021.) Glukoosimetabolian toimiessa normaalisti sokerirasitustesti nostaa glukoosin ja insuliinin plasmapitoisuuksia hetkellisesti, mutta kahden tunnin kuluttua glukoosipitoisuuden tulisi palata alle 7.8 mmol/l tasolle. Mikäli glukoosipitoisuus on vielä kahden tunnin kuluttua yli 7.8 mmol/l mutta alle 11 mmol/l, viittaa lukema huonontuneeseen glukoosinsietoon eli prediabetekseen. Yli 11 mmol/l

tulos puolestaan voi merkitä diabetesta, mutta lopullisen diagnoosin tekemiseksi tulisi henkilölle suorittaa myös muita testejä. (Tunturi, 2021a.)

Sokerirasiatustestissä mitattuja glukoosi- ja insuliiniarvoja käsitellään usein erilaisilla matemaattisilla malleilla. Tällöin otetaan huomioon myös pitoisuuksien vaihtelut testin aikana ja saadaan tutkittua esimerkiksi kudosten insuliiniherkkyyttä sekä haiman insuliinituotannon reagoitinopeutta ja tehokkuutta. Diabetestutkimuksissa usein hyödynnetyt malleja ovat esimerkiksi HOMA-IR, Matsuda-indeksi, insulinogeeninen indeksi sekä dispositioindeksi. HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance) sekä Matsuda-indeksi kuvaavat elimistön insuliiniherkkyyttä ja glukoosin siirtymistä kudoksiin. Glukoosimetabolialla mittaaville indekseille ei varsinaisesti ole olemassa viitearvoja, sillä lukemat voivat vaihdella esimerkiksi eri laboratorioden mittauskäytäntöjen sekä tutkimushenkilön iän, sukupuolen ja etnisen alkuperän mukaan. Suuntaa antavasti on kuitenkin määritelty, että HOMA-IR-arvon tulisi olla pienempi kuin 2 ja tätä suuremmat luvut saattavat viitata insuliiniresistenssiin. Kohonneet HOMA-IR arvot korreloivat useimmiten positiivisesti metabolisen oireyhtymän ja tyypin II diabeteksen kanssa (Matthews ym., 1985). Matsuda-indeksin puolestaan olisi hyvä olla suurempi kuin 2 ja tätä pienemmät arvot voivat viitata insuliiniresistenssiin. Suuret arvot viestivät elimistön hyvästä insuliiniherkkyydestä. (Matsuda & DeFronzo, 1999.)

Insulinogeeninen indeksi mittaa erityisesti  $\beta$ -solujen kykyä vastata nopeasti insuliinin tarpeeseen verensokerin noustessa. Malli ottaa huomioon vain sokerirasiatustestin alkuvaiheen ja arvo lasketaan hyödyntämällä insuliini- ja glukoosipitoisuuksia sokerirasiatustestin ensimmäisessä mittauspisteessä 30 minuutin kohdalla. Insulinogeenisen indeksin korkeat arvot kertovat  $\beta$ -solujen hyvästä reagoitinopeudesta ja tehokkaasta insuliinituotannosta, kun taas matalat arvot voivat viitata haiman heikentyneeseen toimintaan. Kun insulinogeenisen indeksin ja Matsuda-indeksin arvot kerrotaan keskenään, saadaan laskettua dispositioindeksi, joka kuvaa kudosten insuliiniherkkyyden ja haiman insuliinierityksen välistä tasapainoa. Dispositioindeksin korkeat arvot kertovat insuliinierityksen olevan sopivassa suhteessa insuliiniherkkyyteen, kun taas matalat arvot voivat tarkoittaa insuliinivasteen olevan riittämätön elimistön tarpeeseen nähden. (Kahn ym., 1993.)

Myös pitkän aikavälin muutoksia glukoositasapainossa voidaan tutkia verinäytteestä. Punasolujen hemoglobiinimolekyyleihin kiinnittyy ajan myötä glukoosia, jolloin muodostuu sokerihemoglobiinia (engl. glycated hemoglobin, HbA<sub>1c</sub>). Sokerihemoglobiinin määrä kuvaa keskimääräistä veren glukoosipitoisuutta edeltävän 2–

8 viikon ajalta, minkä vuoksi sitä kutsutaankin myös ”pitkäksi sokeriksi”. Glukoosin kiinnittymisvauhti riippuu glukoosin määrästä veressä, eli mitä korkeampi verensokeri on, sitä korkeampi on myös HbA<sub>1c</sub>-arvo. Näin ollen diabeteksessa arvot ovat useimmiten koholla ja testiä hyödynnetäänkin paljon diagnostiikassa. Terveillä ihmisillä sokerihemoglobiinin pitoisuus on 20–42 mmol/mol ja yli 48 mmol/mol viittaa diabetekseen. Koska glukoosi kiinnittyy hemoglobiiniin hitaasti, satunnaiset korkeat glukoosipiikit eivät vaikuta tulokseen, eikä verinäytettä varten tarvitse paastota. Mikäli glukoositasapaino korjautuu esimerkiksi elämäntapamuutosten myötä, alkaa HbA<sub>1c</sub>-arvo pienentyä 10–20 päivän kuluessa. (Tunturi, 2021b.)

Koska maksan rooli elimistön glukoosimetabolian säätelyssä on merkittävä, on tutkimuksissa hyvä ottaa huomioon myös sen glukoosiaineenvaihdunta sekä yleinen terveydentila. Glukoosin sisäänottoa maksaan kuvaava HGU-arvo sekä maksan glukoosituotantoa kuvaava EGP-arvo voidaan laskea hyödyntämällä PET-kuvauksessa injektointia FDG-merkkiainetta. HGU-arvo voidaan määrittää PET-kuvista Patlakin metodilla ja EGP-arvo saadaan laskettua seuraamalla merkkiaineen poistumista verenkierrosta. Verinäytteistä voidaan mitata myös maksan erittämien entsyymien pitoisuuksia, jotka kertovat maksasolujen eli hepatosyyttien terveydestä. Yleisimmin mitattavia entsyymejä ovat alaniiniaminotransferaasi (P-ALAT), glutamyyliitransferaasi (P-GT) sekä alkalinen fosfataasi (P-AFOS), joiden erityis maksasta lisääntyy erilaisten maksavaurioiden ja -tulehdusten myötä. Esimerkiksi lihavuudesta aiheutuva maksan rasvoittuminen sekä runsas alkoholinkäyttö lisäävät P-ALAT sekä P-GT entsyymien eritystä verenkiertoon. P-AFOS puolestaan reagoi erityisesti muutoksiin sapen erityksessä. Mikäli sapen eteneminen sappitiehyissä on estynyt esimerkiksi maksan rasvoittumisen takia, entsyymien erityis lisääntyy. Maksaentsyymien pitoisuudet korreloivat usein positiivisesti painoindexin kanssa. (Tunturi, 2021c.)

## 1.4 Tutkimuksen tavoitteet

Tutkimuksen tavoitteena on selvittää, onko ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus yhteydessä elimistön hyvään glukoosimetaboliaan. Tutkimuksessa tarkastellaan ruskean rasvakudoksen aktivoitumista akuutissa kylmältistuksessa sekä mitataan elimistön glukoosimetaboliaa normaali- ja ylipainoisilla tutkimushenkilöillä. Ylipainoisilla ruskean rasvakudoksen kylmäaktivoitumisen odotetaan aiempien tutkimusten perusteella olevan vähäistä, joten tutkimuksessa halutaan myös selvittää, lisääntykö ruskean rasvan aktiivisuus ja muuttuuko elimistön glukoosimetabolia säännöllisten kylmältistuksien seurauksena. Tutkimuksessa tarkastellaan myös avantouintiharrastuksen vaikutuksia ruskean rasvakudoksen aktivoitumiseen kylmältistuksessa.

### Tutkimuskysymykset:

1. Miten ruskean rasvakudoksen kylmäaktivoituminen ja elimistön glukoosimetabolia eroavat normaali- ja ylipainoisilla tutkimushenkilöillä?
2. Onko ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus yhteydessä elimistön hyvään glukoosimetaboliaan?
3. Onko avantouintiharrastuksella vaikutusta ruskean rasvakudoksen aktiivisuuteen?
4. Lisääntykö ruskean rasvakudoksen aktiivisuus ylipainoisilla säännöllisten kylmältistuksien seurauksena ja tapahtuuko glukoosimetaboliassa muutoksia?

## 2. AINEISTO JA MENETELMÄT

### 2.1 Tutkimushenkilöt

Tutkimushenkilöt olivat normaali- tai ylipainoisia perusterveitä 20–46-vuotiaita miehiä ja naisia, joista osa oli harrastanut aiemmin avantouintia. Tässä tutkimuksessa normaalipainoisiksi luokiteltiin henkilöt, joiden painoindeksi oli  $< 27,5 \text{ kg/m}^2$  ja ylipainoisiksi luokiteltiin henkilöt, joiden painoindeksi oli  $\geq 27,5 \text{ kg/m}^2$ . Normaalipainoisia tutkimushenkilöitä oli 20, joista 5 oli harrastanut säännöllisesti avantouintia. Ylipainoisia tutkimushenkilöitä oli myös 20, joista 5 oli harrastanut säännöllisesti avantouintia. Kuten taulukosta 1 nähdään, kaikki tutkimushenkilöt osallistuivat tutkimukseen I, jossa tutkittiin ruskean rasvakudoksen aktivoitumista akuutissa kylmäaltistuksessa. Ylipainoisista tutkimushenkilöistä, jotka eivät olleet harrastaneet avantouintia, 5 osallistui lisäksi tutkimukseen II eli pitkäaikaiseen kylmäinterventioon. Kaikille tutkimushenkilöille suoritettiin alussa terveystarkastus, jossa todettiin soveltuvuus tutkimukseen kyselylomakkeiden ja erilaisten testien avulla. Tarkastuksessa otettiin antropometrisia mittoja (paino, pituus, vyötärönympäryys) ja laaja verenkuva paaston jälkeen sekä tehtiin sokerirasitustesti. Esteenä tutkimukseen osallistumiselle olivat raskaus tai sen suunnittelu, nikotiinituotteiden käyttö, aiempi osallistuminen säderasitusta aiheuttaviin tutkimuksiin, diagnosoitu diabetes tai diabetekseen viittaava tulos sokerirasitustestissä sekä muut krooniset sairaudet ja lääkkitykset, jotka olisivat mahdollisesti voineet vaikuttaa tutkimustuloksiin.

**Taulukko 1.** Tutkimushenkilöiden ryhmittely. Keskiarvot ja keskihajonnat ilmoitettu.

Tutkimus	Ryhmä	Ikä (vuosia)	Sukupuoli (N/M)	BMI ( $\text{kg/m}^2$ )	Vyötärönympäryys (cm)
I	Normaalipainoiset	$32,5 \pm 8,43$	11N/4M	$23,0 \pm 1,69$	$79,4 \pm 7,36$
I	Normaalipainoiset avantouimarit	$36,8 \pm 3,70$	2N/3M	$23,8 \pm 1,95$	$82,0 \pm 9,06$
I	Ylipainoiset	$35,7 \pm 4,24$	11N/4M	$35,7 \pm 6,99$	$109,3 \pm 16,55$
I	Ylipainoiset avantouimarit	$42,2 \pm 2,59$	4N/1M	$31,6 \pm 2,36$	$98,7 \pm 5,35$
II	Ylipainoiset	$37,0 \pm 4,69$	4N/1M	$33,5 \pm 6,02$	$105,0 \pm 12,47$

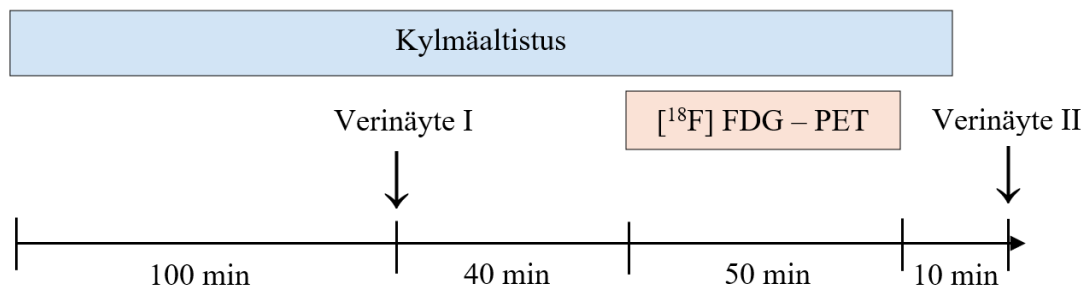
## 2.2 *In vivo* -tutkimukset

### 2.2.1 Tutkimus I – Ruskean rasvakudoksen kylmäaktivoituminen

Kaikki tutkimushenkilöt osallistuivat tutkimukseen I, jonka tarkoituksena oli mitata ruskean rasvakudoksen aktivoitumista akuutissa kylmäaltistuksessa. Tutkimushenkilöt saapuivat PET-keskukseen aikaisin aamulla ja he olivat paastonneet vähintään 8 tuntia ennen tutkimusta. Molempien kyynärtaiteiden laskimot kanyloitiin näytteiden ottamista sekä merkkiaineinjektioita varten. Lisäksi heidän iholleen asetettiin 8 kpl lämpöä mittaavia sensoreita. Sensoreista yksi kiinnitettiin otsaan, yksi oikeaan lapaluuhun, yksi rintakehän vasemmalle puolelle, yksi oikeaan olkapäähän, yksi vasempaan käsivarteen kyynärpään yläpuolelle, yksi vasempaan kämmenselkään, yksi oikean reiden yläosaan ja yksi vasemman pohkeen yläosaan. Ihon lämpötilaa mitattiin huoneenlämmössä tunnin ajan. Kaikkien sensoreiden mittaustulokset ja niiden keskiarvo kirjattiin ylös viiden minuutin välein. Lopuksi laskettiin ihon lämpötilan keskiarvo koko tunnin ajalta, minkä jälkeen aloitettiin kylmäaltistus.

Tutkimushenkilöt makasivat selällään tutkimussängyllä ja heidän päälleen sekä alleen asetettiin peitteet (Blanketrol III, Cincinnati Sub-Zero, Cincinnati, USA), joiden sisällä kiersi kylmää vettä. Kylmäpeitteillä tutkimushenkilöiden ihon lämpötilaa laskettiin viisi astetta huoneenlämmössä mitatusta keskiarvosta. Kylmäaltistusta jatkettiin 100 minuutin ajan, minkä jälkeen otettiin verinäyte glukoosipitoisuuden määrittystä varten. Verinäytteen jälkeen tutkimushenkilöt siirrettiin kylmäpeitteiden kanssa PET-CT-kuvauslaitteeseen (Siemens Biograph Vision Quadra, Siemens Medical Solutions, USA). Ensin otettiin CT-kuvat (2min), minkä jälkeen injektioitiin [<sup>18</sup>F] FDG ja tehtiin PET-kuvaukset (50 min). Kylmäaltistusta ja ihon lämpötilan seuranta jatkettiin koko kuvauksen ajan. Kuvauksen päätyttyä tutkimushenkilöiltä otettiin toinen verinäyte glukoosipitoisuuden mittaamista varten. Tutkimuksen vaiheita on esitetty kuvassa 1. FDG-annoksen tavoiteaktiivisuus oli 100 MBq, mutta todellisuudessa injektoidut aktiivisuudet poikkesivat tästä hieman (Ka. 106,53 MBq ± 4,64). Merkkiaineen aktiivisuus mitattiin täydestä ruiskusta dosimetrillä ja siitä vähennettiin jäännösruiuskun aktiivisuus. Kuvauksessa käytetyt merkkiaineet oli tuotettu PET-keskuksessa radiokemian laboratoriossa.





**Kuva 1.** Tutkimuksen I vaiheita aikajanalla.

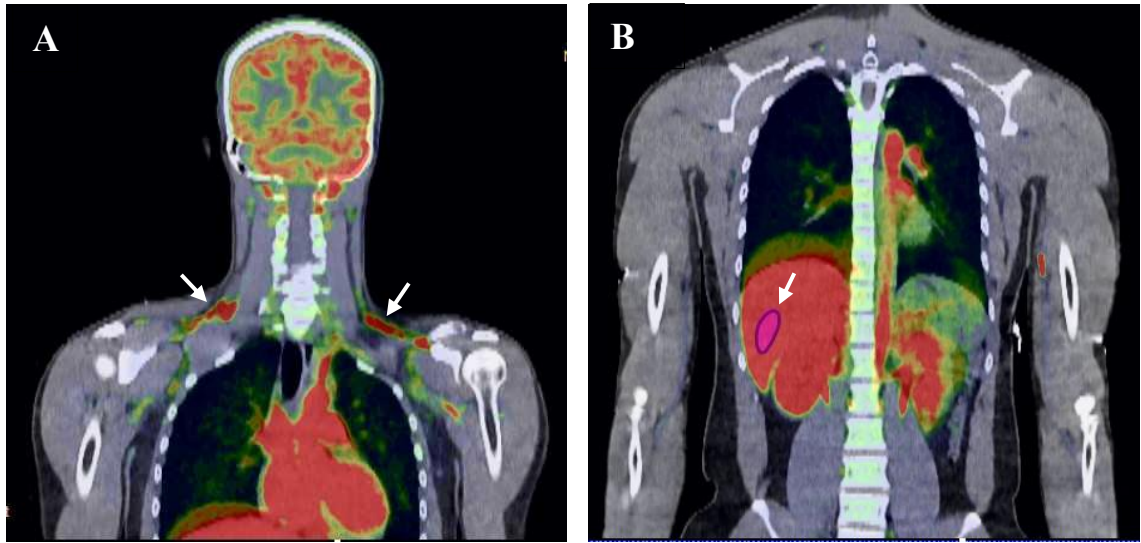
### 2.2.2 Tutkimus II – Kylmäinterventio

Viisi ylipainoista tutkimushenkilöä osallistui myös tutkimukseen II, jonka tarkoituksena oli tutkia toistuvien kylmäaltistuksien pitkäaikaisia vaikutuksia ruskean rasvakudoksen aktiivisuuteen ja elimistön glukoosimetaboliaan. Ensin tehtiin terveystarkastus ja tutkimus I, minkä jälkeen aloitettiin kylmäaltistukset, jotka tapahtuivat PET-keskuksessa säännöllisesti 1–3 kertaa viikossa niin kauan, kunnes altistuskertoja oli kertynyt vähintään 15. Intervention pituus oli keskimäärin  $8 \pm 2$  viikkoa. Kylmäaltistuksessa tutkimushenkilöt istuivat Avantopool -kylmäammeessa, jonka vesi oli säädetty  $18^{\circ}\text{C}$ :een. Ensimmäiset kuusi kertaa altistusaika oli 30 minuuttia, minkä jälkeen aikaa nostettiin 45 minuuttiin seuraavalle kuudelle altistuskerralle. Tämän jälkeen loput altistukset kestivät 60 minuuttia. Veden pinta ulottui kainaloihin asti ja tutkimushenkilöt saivat pitää kätensä ammeen ulkopuolella. Kylmäaltistus ei vaikuttanut kehon ydinlämpötilaan, mikä varmistettiin intervention alussa seuraamalla lämpötilaa yhden altistuksen aikana nieltävällä lämpösensorilla (e-Celsius, BodyCap, Caen, France). Kylmäintervention jälkeen tutkimushenkilöille tehtiin uudelleen terveystarkastus sekä tutkimus I.

## 2.3 Aineistojen käsittely

### 2.3.1 PET-kuva-analyysi

Kylmäältistuksen aikana otetut PET/CT-kuvat analysoitiin lääketieteelliseen kuvantamiseen kehitetyllä Carimas-käsittelyalustalla (versio 2.10). FDG-kuviin piirrettiin manuaalisesti kolmiulotteisia alueita kiinnostuksen kohteina oleviin kudoksiin, jotka tässä tutkimuksessa olivat ruskea rasvakudos ja maksa. Ruskean rasvan analyysialueet piirrettiin symmetrisesti molempien soliskuoppien lähettyville CT-kuvissa tummana esiintyvään rasvakudokseen. Kudoksen aktiivisuus näkyi PET-kuvissa värimuutoksena, joka kuvasi merkkiaineen kertymistä (kuva 2A). Piirtäessä pyrittiin huolellisesti välttämään verisuonia sekä muita kudoksia, kuten ympäröiviä lihaksia. Maksan analyysialue piirrettiin oikean lohkon alaosaan (kuva 2B). Myös maksassa pyrittiin välttämään suuria verisuonia, jotka sijaitsevat useimmiten oikean lohkon yläosassa. Piirrettyihin alueisiin hyödynnettiin Patlakin graafista mallinnusta, jolloin saatiin laskettua Ki-arvo, joka kuvasi merkkiaineen sisäänottoa kudokseen. Patlakin mallinnusta varten myös aortankaareen ja maksan porttilaskimoon piirrettiin analyysialueet, jolloin saatiin selvitettyä veren merkkiainepitoisuus, eli niin sanottu analysoitavan kudoksen input-arvo. Ruskean rasvan mallinnuksessa käytettiin aortankaaren merkkiainepitoisuutta ja maksan mallinnusta varten porttilaskimon ja aortankaaren merkkiainepitoisuudet yhdistettiin siten, että maksan verenkierrosta 70 % oletettiin tulevan porttilaskimon kautta ja 30 % maksavaltimosta. Glukoosin sisäänotto määritettiin kertomalla Ki-arvo tutkimushenkilöltä otetun verinäytteen glukoosipitoisuudella ja jakamalla tulo LC-arvolla. Maksan LC-arvona käytettiin 1:tä (Iozzo ym., 2007) ja ruskean rasvan LC-arvona 1,14:ää (Virtanen ym., 2001). Glukoosipitoisuudeksi laskettiin keskiarvo kahdesta verinäytteestä, jotka oli otettu tutkimushenkilöltä kylmäältistuksen aikana ennen PET-kuvausta sekä kuvauksen jälkeen. Tulos kerrottiin sadalla ja jaettiin kudoksen tiheydellä, jolloin saatiin laskettua glukoosin sisäänoton määrä erikseen maksakudokseen sekä ruskeaan rasvakudokseen. Ruskean rasvan tiheydeksi määritettiin 0,9196 g/ml (Abate ym., 1995) ja maksan tiheydeksi 1 g/ml (Iozzo ym., 2007). Glukoosin sisäänoton määrä toimi indikaattorina kudoksen metabolisesta aktiivisuudesta.



**Kuva 2.** (A) PET/CT-kuva, jossa havaitaan symmetriset aktiivisuusalueet ruskeassa rasvakudoksessa. (B) PET/CT-kuva, johon on piirretty maksan analysialue (pinkillä).

### 2.3.2 Glukoosiprofiilit

Tutkimushenkilöiden glukoosimetaboliaa tutkittiin sokerirasitustestillä, minkä lisäksi verinäytteistä mitattiin paastoglukoosi- ja paastoinsuliinipitoisuus, HbA<sub>1c</sub> -arvo, sekä maksaentsyymit P-ALAT, P-AFOS ja P-GT. Sokerirasitustestissä tutkimushenkilöt joivat 250 ml GlucosePro-juomaa, joka sisälsi 75 g glukoosia. 30 minuutin kuluttua otettiin ensimmäinen verinäyte, minkä jälkeen otettiin vielä kolme näytettä 60, 90 ja 120 minuutin kuluttua juomisesta. Verinäytteistä mitattuja glukoosi- ja insuliinipitoisuuksia käsiteltiin matemaattisilla kaavoilla, jolloin saatiin laskettua HOMA-IR-arvo (kaava 1) (Matthews ym., 1985), Matsuda-indeksi (kaava 2) (Matsuda & DeFronzo, 1999), insulinoogeeninen indeksi (kaava 3) sekä dispositioindeksi (kaava 4) (Kahn, 1993).

$$\text{HOMA-IR} = \frac{fPG \times fPI}{22.5}$$

jossa fPG = plasman paastoglukoosipitoisuus (1)

fPI = plasman paastoinsuliinipitoisuus

$$\text{Matsuda-indeksi} = \frac{10\,000}{\sqrt{(fPG \times fPI) \times (ka_{PG} \times ka_{PI})}}$$

jossa fPG = plasman paastoglukoosipitoisuus

fPI = plasman paastoinsuliinipitoisuus (2)

jossa ka<sub>PG</sub> = sokerirasitustestissä mitattujen glukoosipitoisuuksien keskiarvo

ka<sub>PI</sub> = sokerirasitustestissä mitattujen insuliinipitoisuuksien keskiarvo

$$\text{Insulinogeeninen indeksi} = \frac{PI_{30} - fPI}{PG_{30} - fPG}$$

jossa fPG = plasman paastoglukoosipitoisuus

fPI = plasman paastoinsuliinipitoisuus (3)

jossa PG<sub>30</sub> = plasmaglukoosipitoisuus 30 minuutin kohdalla

PI<sub>30</sub> = plasmainsuliinipitoisuus 30 minuutin kohdalla

**Dispositioindeksi** = insulinogeeninen indeksi x Matsuda-indeksi (4)

Maksan tuottaman glukoosin määrä (EGP) laskettiin hyödyntämällä PET-kuvauksessa injektointia FDG-merkkiainetta. Kun tiedettiin merkkiaineannoksen aktiivisuus, voitiin PET-kuvista analysoidun aorttaveren aktiivisuuden sekä kuvauksen jälkeen mitatun virtsanäytteen aktiivisuuden avulla laskea glukoosin poistumistahti verenkierrosta (engl. rate of disappearance, R<sub>d</sub>). R<sub>d</sub>-arvo laskettiin kaavalla 5. Paastotilassa kaikki verenkierrosta poistuva glukoosi on maksan tuottamaa, joten R<sub>d</sub> = EGP.

$$\mathbf{R_d} = \frac{inj_{FDG} - U_{FDG}}{AUC_{FDG}} \times ka_{PG}$$

jossa  $inj_{FDG}$  = injektoidun FDG-merkkiaineen aktiivisuus

$U_{FDG}$  = virtsanäytteestä mitattu aktiivisuus (5)

$ka_{PG}$  = glukoosipitoisuuksien keskiarvo kahdesta verinäytteestä kylmälaituksen aikana

$AUC_{FDG}$  (engl. area under curve) = aorttaveren aktiivisuuskuvasta laskettu arvo, joka kuvaa merkkiaineen aktiivisuuden vähenemistä ajan funktiona

### 2.3.3 Tilastanalyysit

Tulosten tilastollinen analyysi tehtiin IBM SPSS-ohjelmistossa (versio 29.0). Shapiro-Wilkin testillä selvisi, että suuri osa mitatuista muuttujista ei ollut normaalisti jakautuneita. Näin ollen muuttujien väliset korrelaatiot mitattiin Spearmanin testillä. Korrelaatiot mitattiin käsittelemällä kaikkia tutkimushenkilöitä sekä yhtenä ryhmänä että erikseen normaalipainoisten ja ylipainoisten ryhmissä. Mittaustulosten keskiarvojen vertailuun normaalipainoisten ja ylipainoisten ryhmien välillä sekä avantouimareiden ja ei-avantouimareiden välillä hyödynnettiin Mann-Whitneyn U-testiä. Normaalipainoisia ja ylipainoisia avantouimareita verrattiin ei-avantouimareihin erikseen omissa painoindexiryhmissään. Lisäksi tutkimushenkilöt jaettiin tutkimuksessa I mitatun ruskean rasvakudoksen glukoosin sisäänoton (BAT GU) mukaan matalan aktiivisuuden ( $BAT\ GU < 3\ \mu\text{mol}/100\ \text{g} \cdot \text{min}$ ) ja korkean aktiivisuuden ( $BAT\ GU \geq 3,0\ \mu\text{mol}/100\ \text{g} \cdot \text{min}$ ) ryhmiin ja mittaustulosten keskiarvoja vertailtiin Mann-Whitneyn U-testillä. Ennen kylmäinterventiota ja intervention jälkeen mitattujen muuttujien keskiarvoja vertailtiin parittaisella T-testillä. Tuloksista on ilmoitettu keskiarvot ja keskihajonnat sekä korrelaatioista lisäksi korrelaatiokerroin  $\rho$ . Tulokset, joiden p-arvo oli alle 0,05 tulkittiin olevan tilastollisesti merkitseviä.

### 3. TULOKSET

#### 3.1 Terveystarkastus ja tutkimus I

Tutkimukseen I osallistuneet tutkimushenkilöt jaettiin painoindeksin mukaan normaali- ja ylipainoisten ryhmiin. Kuten taulukosta 2 käy ilmi, ylipainoisten ryhmässä tutkimushenkilöiden paino, painoindeksi ja vyötärönympäryys olivat huomattavasti suuremmat kuin normaalipainoisten ryhmässä. Tutkimushenkilöiden keskimääräinen ikä, pituus ja sukupuolijakauma eivät eronneet ryhmien välillä, mikä mahdollisti normaali- ja ylipainoisten tutkimushenkilöiden mittaustulosten luotettavan vertailun.

**Taulukko 2.** Normaalipainoisten ja ylipainoisten tutkimushenkilöiden antropometrisiä mittoja ryhmittäin. Keskiarvot, keskihajonnat ja vertailujen p-arvot ilmoitettu.

	Normaalipainoiset	Ylipainoiset	p-arvo
Sukupuoli (N/M)	13N/7M	15N/5M	0,602
Ikä (vuosia)	33,6±7,68	37,3±4,80	0,121
Pituus (cm)	172,6±10,03	169,7±10,15	0,341
Paino (kg)	69,5±10,56	99,9±21,45	<0,001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23,2±1,74	34,6±6,36	<0,001
Vyötärönympäryys (cm)	80,0±7,65	107,0±15,40	<0,001

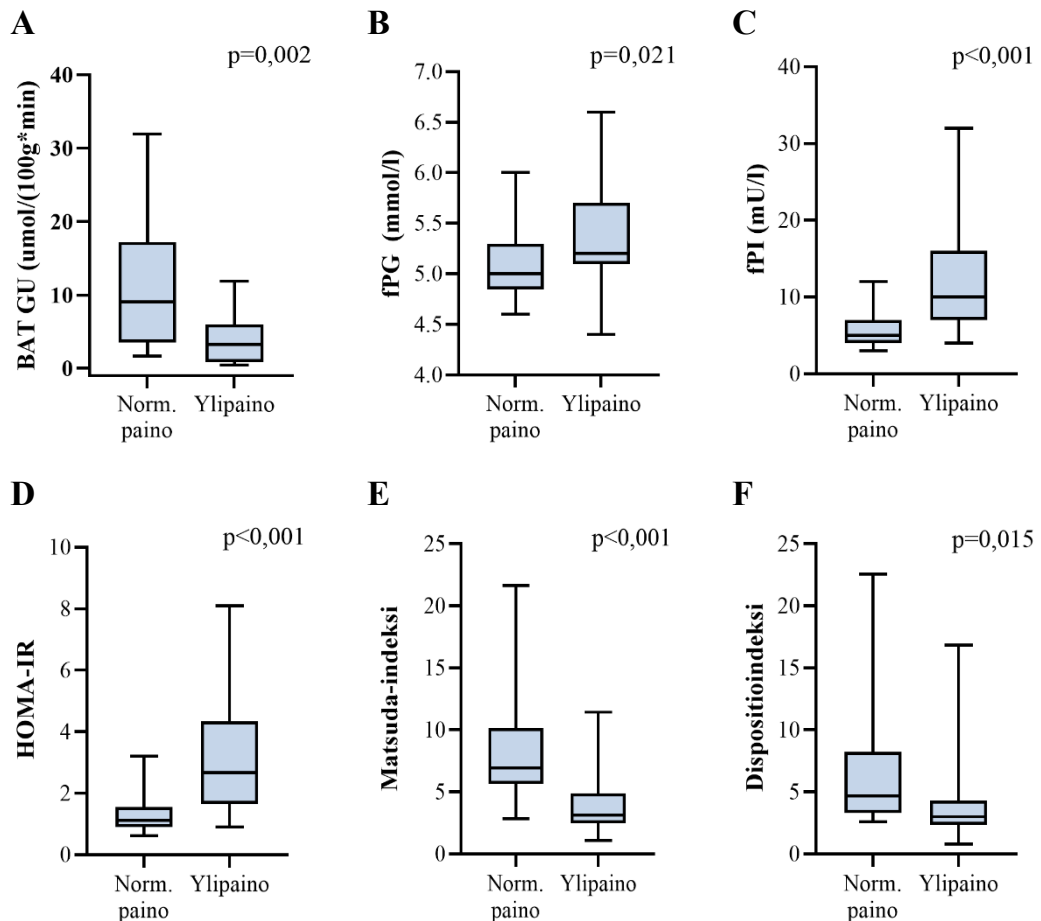
##### 3.1.1 Normaali- ja ylipainoisten tutkimushenkilöiden mittaustulosten vertailua

Tutkimushenkilöiden glukoosimetaboliasta, ruskean rasvakudoksen aktiivisuudesta sekä maksan toiminnasta kertovia mittaustuloksia vertailtiin normaali- ja ylipainoisten ryhmien välillä. Taulukosta 3 havaitaan, että glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen oli suurempaa normaalipainoisilla kuin ylipainoisilla tutkimushenkilöillä. Myös useat glukoosimetabolian kuvaavat arvot olivat paremmat normaalipainoisilla. Paastoglukoosi- ja paastoinsuliinipitoisuus sekä HOMA-IR-arvo olivat matalampia normaalipainoisilla ja Matsuda-indeksi ja dispositioindeksi puolestaan olivat korkeampia normaalipainoisilla (kuva 3). Mittaustulokset siis osoittivat, että normaalipainoiset tutkimushenkilöt olivat insuliiniherkempiä ja ruskea rasvakudos oli

heillä aktiivisempaa kuin ylipainoisilla tutkimushenkilöillä. Lisäksi havaittiin, että maksaentsyymi P-GT:n pitoisuus oli matalampi normaalipainoisilla kuin ylipainoisilla, mikä viittaa siihen, että maksasolut olivat vaurioituneempia ylipainoisilla tutkimushenkilöillä.

**Taulukko 3.** Normaalipainoisten ja ylipainoisten tutkimushenkilöiden glukoosimetaboliasta ja maksan toiminnasta kertovia mittaustuloksia ryhmittäin. Keskiarvot, keskihajonnat ja vertailujen p-arvot ilmoitettu.

	Normaalipainoiset	Ylipainoiset	p-arvo
BAT GU (umol/(100g*min))	<b>11,3±9,07</b>	<b>3,9±3,26</b>	0,002
fPG (mmol/l)	<b>5,1±0,40</b>	<b>5,4±0,51</b>	0,021
fPI (mU/l)	<b>5,6±2,26</b>	<b>12,4±7,42</b>	<0,001
Matsuda-indeksi	<b>8,2±4,30</b>	<b>4,2±3,00</b>	<0,001
HOMA-IR	<b>1,2±0,59</b>	<b>3,0±1,96</b>	<0,001
Dispositioindeksi	<b>6,8±5,76</b>	<b>4,1±3,68</b>	0,015
Insulinogeeninen indeksi	<b>0,9±0,80</b>	<b>1,3±1,05</b>	0,264
HbA1c (mmol/mol)	<b>34,1±2,86</b>	<b>35,2±3,39</b>	0,478
HGU (umol/(100g*min))	<b>1,6±0,65</b>	<b>1,8±0,51</b>	0,192
EGP (umol/min)	<b>1134,4±196,95</b>	<b>1183,8±158,84</b>	0,276
P-GT	<b>15,4±13,77</b>	<b>32,5±42,87</b>	0,006
P-ALAT	<b>20,7±10,56</b>	<b>27,3±16,50</b>	0,165
P-AFOS	<b>59,9±18,33</b>	<b>67,0±14,16</b>	0,149



**Kuva 3.** **A)** Glukoosin sisäänotto ruskeassa rasvakudoksessa (BAT GU) normaalipainoisilla (n=20) ja ylipainoisilla (n=20) tutkimushenkilöillä. **B)** Paastoglukoosipitoisuus (fPG) normaalipainoisilla (n=20) ja ylipainoisilla (n=20) tutkimushenkilöillä. **C)** Paastoinsuliinipitoisuus (fPI) normaalipainoisilla (n=20) ja ylipainoisilla (n=19) tutkimushenkilöillä. **D)** HOMA-IR-arvo normaalipainoisilla (n=20) ja ylipainoisilla (n=19) tutkimushenkilöillä. **E)** Matsuda-indeksi normaalipainoisilla (n=20) ja ylipainoisilla (n=19) tutkimushenkilöillä. **F)** Dispositioindeksi normaalipainoisilla (n=20) ja ylipainoisilla (n=18) tutkimushenkilöillä.

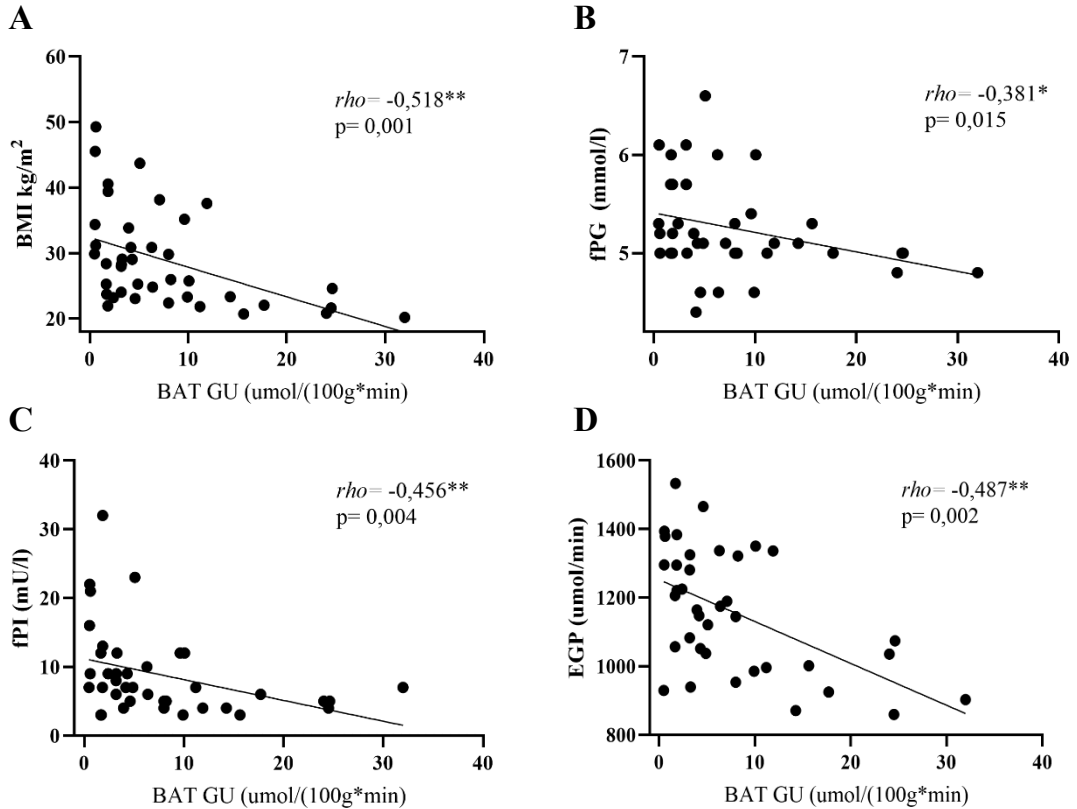
Lisäksi tutkimuksen I tulokset osoittivat, että ylipainon määrällä on merkitystä siinä, miten ylipaino vaikuttaa elimistön glukoosimetaboliaan ja maksan toimintaan. Painoindeksi korreloi useimpien elimistön glukoosimetaboliaa kuvaavien muuttujien kanssa. Painoindeksi korreloi positiivisesti paastoglukoosi- ( $p=0,020$ ,  $\rho=0,366$ ) ja paastoinsuliinipitoisuuden ( $p<0,001$   $\rho=0,616$ ) sekä HOMA-IR- ( $p<0,001$ ,  $\rho=0,596$ ) ja EGP-arvon ( $p=0,008$ ,  $\rho=0,426$ ) kanssa. Lisäksi painoindeksi korreloi negatiivisesti Matsuda-indeksin ( $p=0,001$ ,  $\rho=-0,524$ ) ja dispositioindeksin ( $p=0,04$ ,  $\rho=-0,335$ ) kanssa. Korkea painoindeksi oli siis yhteydessä elimistön heikentyneeseen insuliiniherkkyyteen ja maksan lisääntyneeseen glukoosituotantoon ja mitä enemmän ylipainoa oli, sitä suurempia vaikutukset olivat.



Painoindeksi ja vyötärön ympärys korreloivat myös maksan toimintaa kuvaavien veriarvojen kanssa. Painoindeksi korreloi positiivisesti P-GT- ( $p < 0,001$ ,  $\rho = 0,527$ ), P-ALAT- ( $p = 0,017$ ,  $\rho = 0,375$ ) ja P-AFOS-arvon ( $p = 0,033$ ,  $\rho = 0,338$ ) kanssa. Myös vyötärön ympärys korreloi positiivisesti P-GT- ( $p < 0,001$ ,  $\rho = 0,652$ ), P-ALAT- ( $p = 0,003$ ,  $\rho = 0,465$ ) ja P-AFOS-arvon ( $p = 0,002$ ,  $\rho = 0,471$ ) kanssa. Korkea painoindeksi ja suuri vyötärön ympärys olivat siis yhteydessä maksasolujen vaurioitumiseen, joka ilmeni kohonneina maksaentsyymipitoisuuksina. Lisäksi maksan EGP-arvo korreloi positiivisesti P-GT- ( $p < 0,001$ ,  $\rho = 0,546$ ), P-ALAT- ( $p < 0,001$ ,  $\rho = 0,539$ ) sekä P-AFOS-arvon ( $p = 0,006$ ,  $\rho = 0,438$ ) kanssa, mikä osoitti, että myös maksan suuri glukoosituotanto oli yhteydessä maksasolujen vaurioitumiseen. Lisäksi maksan EGP-arvo korreloi paastoglukoosipitoisuuden ( $p = 0,044$ ,  $\rho = 0,328$ ) kanssa, eli maksan suuri glukoosituotanto lisäsi veren glukoosipitoisuutta. Ylipainoisten ryhmässä myös maksan sisään ottaman glukoosin määrää kuvaava HGU-arvo korreloi negatiivisesti painoindeksin ( $p = 0,006$ ,  $\rho = -0,591$ ) ja painon ( $p = 0,020$ ,  $\rho = -0,514$ ) kanssa. Merkittävä ylipaino oli siis yhteydessä maksan vähäiseen glukoosin sisäänottoon.

### 3.1.2 Aktiivisen ruskean rasvakudoksen vaikutukset elimistön glukoosimetaboliaan

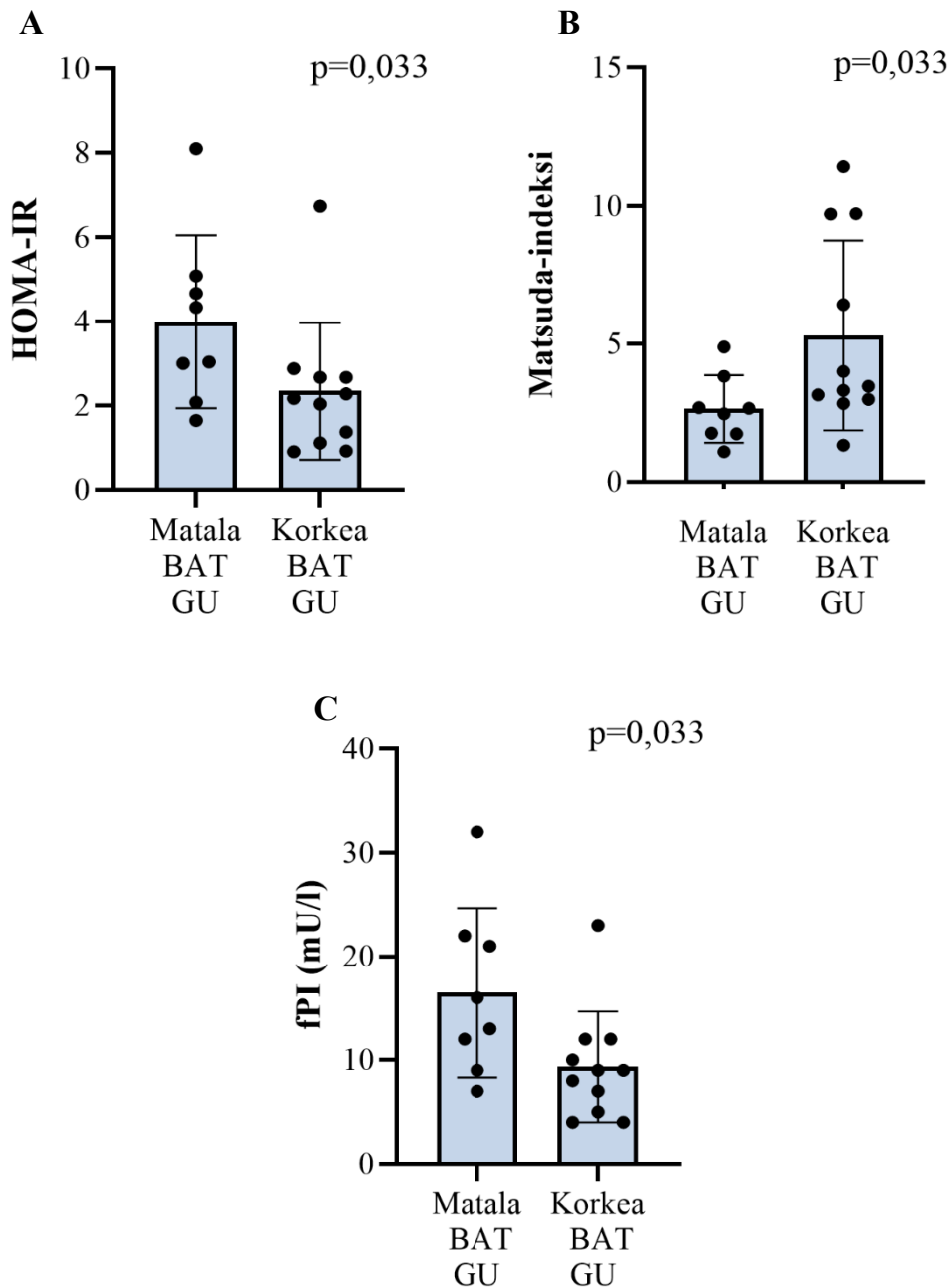
Glukoosin sisäänotto ruskeassa rasvakudoksessa korreloi negatiivisesti painoindeksin ( $p = 0,001$ ,  $\rho = -0,518$ ), sekä paastoglukoosi- ( $p = 0,015$ ,  $\rho = -0,381$ ) ja paastoinsuliinipitoisuuden ( $p = 0,004$ ,  $\rho = -0,456$ ) kanssa (kuva 4A-C). Ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus oli siis yhteydessä elimistön systeemiseen insuliiniherkkyyteen sekä matalaan painoindeksiin. Lisäksi glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen korreloi negatiivisesti EGP-arvon kanssa ( $p = 0,002$ ,  $\rho = -0,487$ ) (kuva 4D). Ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus oli siis myös yhteydessä maksan vähäisempään glukoosituotantoon.



**Kuva 4.** A) Ruskean rasvan glukoosin sisäänoton (BAT GU) ja painoindeksin (BMI) välinen korrelaatio (n=40). B) Ruskean rasvan glukoosin sisäänoton (BAT GU) ja paastoglukoosipitoisuuden (fPG) välinen korrelaatio (n=40). C) Ruskean rasvan glukoosin sisäänoton (BAT GU) ja paastoinsuliinipitoisuuden (fPI) välinen korrelaatio (n=39). D) Ruskean rasvan glukoosin sisäänoton (BAT GU) ja maksan endogeenisen glukoosituotannon (EGP) välinen korrelaatio (n=38).

Normaalipainoiset ja ylipainoiset tutkimushenkilöt jaettiin omissa painoindeksiryhmissään ruskean rasvakudoksen glukoosin sisäänoton perusteella matalan aktiivisuuden (BAT GU < 3 umol/100 g \*min) ja korkean aktiivisuuden (BAT GU ≥ 3,0 umol/100 g\*min) ryhmiin. Ylipainoisilla korkean aktiivisuuden ryhmään kuului 11 tutkimushenkilöä ja matalan aktiivisuuden ryhmään 8, eli tutkimushenkilöt jakautuivat ryhmiin melko tasaisesti. Ryhmien välillä ei ollut merkitsevää eroa tutkimushenkilöiden painoindeksissä, iässä tai sukupuolijakaumassa, joten mittaustuloksia voitiin vertailla luotettavasti. Normaalipainoiset tutkimushenkilöt jakautuivat korkean ja matalan aktiivisuuden ryhmiin hyvin epätasaisesti (n=16 ja n=4) joten mittaustuloksia ei voitu luotettavasti vertailla. Ylipainoisilla tutkimushenkilöillä korkean aktiivisuuden ryhmään kuuluvilla HOMA-IR-arvo oli matalampi (p=0,033) ja Matsuda-indeksi korkeampi (p=0,033) verrattuna matalan aktiivisuuden ryhmään (kuva 5A ja B).

Myös paastoinsuliinipitoisuus oli ylipainoisilla pienempi korkean aktiivisuuden ryhmässä ( $p=0,033$ ) (kuva 5C). Tulokset osoittivat, että ylipainoisilla tutkimushenkilöillä ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus oli yhteydessä elimistön insuliiniherkkyyteen.



**Kuva 5.** **A)** HOMA-IR ylipainoisilla ruskean rasvakudoksen matalan aktiivisuuden ryhmässä ( $n=8$ ) ja korkean aktiivisuuden ryhmässä ( $n=11$ ). **B)** Matsuda-indeksi ylipainoisilla ruskean rasvakudoksen matalan aktiivisuuden ryhmässä ( $n=8$ ) ja korkean aktiivisuuden ryhmässä ( $n=11$ ). **C)** Paastoinsuliinipitoisuus ylipainoisilla ruskean rasvakudoksen matalan aktiivisuuden ryhmässä ( $n=8$ ) ja korkean aktiivisuuden ryhmässä ( $n=11$ ).

### 3.1.3 Avantouinnin vaikutukset ruskean rasvakudoksen aktiivisuuteen

Avantouimareita verrattiin ei-avantouimareihin erikseen normaali- ja ylipainoisten tutkimushenkilöiden ryhmissä. Tutkimushenkilöiden glukoosimetabolialla, maksan toimintaa tai ruskean rasvakudoksen aktiivisuutta kuvaavien muuttujien keskiarvoissa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa avantouimareiden ja ei-avantouimareiden välillä. Mitatuista muuttujista suurimpana mielenkiinnon kohteena oli ruskean rasvakudoksen aktiivisuus. Otokoot olivat avantouimareiden ryhmissä hyvin pienet ja myös merkittävästi pienemmät kuin vertailukohteina olevissa ei-avantouimareiden ryhmissä, joten tutkimuksessa vertailtiin myös ruskean rasvakudoksen glukoosin sisäänoton mediaaniarvoja tarkemman käsityksen saamiseksi. Kuten taulukosta 4 nähdään, normaalipainoisilla ruskean rasvakudoksen glukoosin sisäänoton keskiarvoissa ei ollut merkitsevää eroa avantouimareiden ja ei-avantouimareiden välillä, mutta mediaaniarvo oli suurempi avantouimareilla.

**Taulukko 4.** Glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen normaalipainoisilla avantouimareilla ja ei-avantouimareilla. Keskiarvot, keskihajonnat, mediaanit, mediaanien IQR-arvot sekä vertailun p-arvo ilmoitettu.

	Normaalipainoiset ei-avantouimarit, n=15	Normaalipainoiset avantouimarit, n=5	p-arvo
BAT GU (umol/(100g*min)) Keskiarvo	11,7±9,28	10,3±9,39	0,612
BAT GU (umol/(100g*min)) Mediaani	8,2 IQR=4,58	10,1 IQR=1,68	

Taulukosta 5 huomataan, että myöskään ylipainoisilla ruskean rasvakudoksen glukoosin sisäänoton keskiarvoissa ei ollut eroa avantouimareiden ja ei-avantouimareiden välillä, mutta mediaaniarvo oli hieman suurempi avantouimareilla. Ruskean rasvakudoksen glukoosin sisäänoton suuremmat mediaaniarvot avantouimareilla molemmissa painoindeksiryhmissä viittaavat siihen, että avantouinti voisi mahdollisesti lisätä ruskean rasvakudoksen aktiivisuutta, mutta koska keskiarvoissa ei havaittu eroa ja otoskoko oli hyvin pieni, ei avantouinnin vaikutuksista voida tehdä selkeitä johtopäätöksiä.

**Taulukko 5.** Glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen ylipainoisilla avantouimareilla ja ei-avantouimareilla. Keskiarvot, keskihajonnat, mediaanit, mediaanien IQR-arvot sekä vertailun p-arvo ilmoitettu.

	Ylipainoiset ei-avantouimarit, n=15	Ylipainoiset avantouimarit, n=5	p-arvo
BAT GU (umol/(100g*min)) Keskiarvo	4,4±3,53	2,5±1,83	0,266
BAT GU (umol/(100g*min)) Mediaani	3,2 IQR=1,66	3,3 IQR=0,49	

### 3.2 Tutkimus II - Kylmäintervention vaikutukset ruskean rasvakudoksen aktiivisuuteen

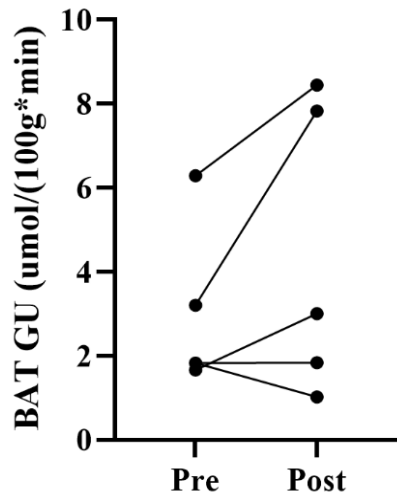
Tutkimukseen II eli kylmäinterventioon osallistuneille tutkimushenkilöille tehtiin terveystarkastus ja tutkimus I ennen interventiota sekä intervention jälkeen. Kuten taulukosta 6 käy ilmi, tutkimushenkilöiden glukoosimetaboliaa, maksan toimintaa tai ruskean rasvakudoksen aktiivisuutta kuvaavien muuttujien keskiarvot eivät muuttuneet tilastollisesti merkitsevästi kylmäinterventiossa. Viidestä tutkimushenkilöstä kolmella glukoosin sisäänotto ruskeassa rasvakudoksessa oli kuitenkin suurempaa kylmäintervention jälkeen verrattuna lähtötilanteeseen. Yhdellä tutkimushenkilöllä glukoosin sisäänotto ei muuttunut ja yhdellä se oli pienempää intervention jälkeen (kuva 6A). Myös glukoosin sisäänoton keskiarvo oli hieman suurempi intervention jälkeen, tosin ero ei ollut merkitsevä (kuva 6B). Intervention otoskoko oli hyvin pieni (n=5), minkä vuoksi keskiarvojen lisäksi myös ruskean rasvakudoksen glukoosin sisäänoton mediaaniarvoja vertailtiin tarkemman käsityksen saamiseksi. Mediaaniarvo oli ennen interventiota 1,8 (IQR=1,74) ja intervention jälkeen 3,0 (IQR=1,43).

**Taulukko 6.** Terveystarkastuksen ja tutkimuksen I mittaustulosten vertailua ennen ja jälkeen kylmäintervention. Keskiarvot, keskihajonnat ja p-arvot ilmoitettu.

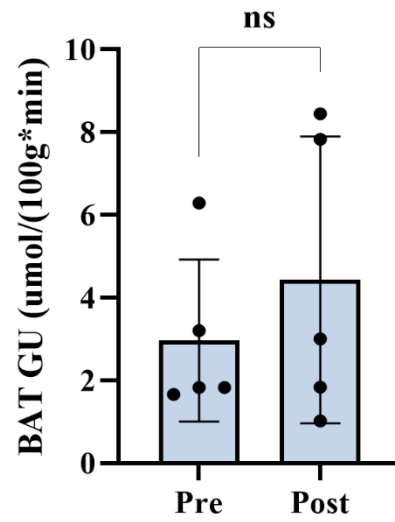
	Ennen interventiota	Intervention jälkeen	p-arvo
Paino (kg)	<b>93,3±22,62</b>	<b>93,8±23,0</b>	0,212
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	<b>33,5±6,02</b>	<b>33,7±6,19</b>	0,210
Vyötärön ympäryys (cm)	<b>105,0±12,47</b>	<b>105,9±15,83</b>	0,624
BAT GU (umol/(100g*min))	<b>3,0±1,96</b>	<b>4,4±3,47</b>	0,195
fPG (mmol/l)	<b>5,7±0,29</b>	<b>5,6±0,29</b>	0,405
fPI (mU/l)	<b>15,2±9,52</b>	<b>12,4±4,04</b>	0,379
Matsuda-indeksi	<b>2,7±1,07</b>	<b>3,0±1,07</b>	0,421
HOMA-IR	<b>3,8±2,42</b>	<b>3,1±0,93</b>	0,376
Insulinogeeninen indeksi	<b>1,9±1,44</b>	<b>1,3±0,63</b>	0,206
Dispositioindeksi	<b>5,5±6,36</b>	<b>3,5±1,68</b>	0,400
HbA1c (mmol/mol)	<b>35,75±1,50</b>	<b>35,75±2,63</b>	1,000
HGU (umol/(100g*min))	<b>2,2±0,71</b>	<b>1,8±0,32</b>	0,327
EGP (umol/min)	<b>1264,8±130,28</b>	<b>1179,6±240,08</b>	0,463
P-GT	<b>61,2±78,76</b>	<b>54,2±57,62</b>	0,531
P-ALAT	<b>33,8±18,05</b>	<b>35,2±17,47</b>	0,756
P-AFOS	<b>67,0±9,25</b>	<b>67,2±11,54</b>	0,949

**A**

p=0,195

**B**

p=0,195



**Kuva 6. A)** Yksilölliset muutokset glukoosin sisäännotossa ruskeaan rasvakudokseen (BAT GU) kylmäinterventiossa (n=5). **B)** Ruskean rasvakudoksen glukoosin sisäännoton (BAT GU) keskiarvot ennen kylmäinterventiota ja intervention jälkeen (n=5).

## 4. POHDINTA

### 4.1 Tulosten tarkastelu

#### 4.1.1 Ruskean rasvakudoksen aktivointi kylmäältistyksellä

Akuutin kylmäältistuksen aikana tehdyllä PET-kuvauksella selvitettiin, onko tutkimushenkilöllä elimistössään metabolisesti aktiivista ruskeaa rasvakudosta. PET-kuvausta FDG-merkkiaineella ei tehty huoneenlämmössä, joten kylmäältistuksen vaikutusta ei tässä tutkimuksessa voitu verrata basaalitasoon, eli tilanteeseen ilman kylmäältistusta. Glukoosin sisäänoton ruskeaan rasvakudokseen tiedetään kuitenkin olevan huoneenlämmössä vähäistä (Virtanen ym., 2009) ja kudoksen mahdolliset vaikutukset glukoosimetaboliaan todennäköisesti vaativat aina kylmäältistuksen laukaiseman aktivoitumisen. Tutkimushenkilöt jaettiin glukoosin sisäänoton perusteella korkean ja matalan aktiivisuuden ryhmiin ja mittaustuloksista huomattiin, että kylmäaktivoituvaa ruskeaa rasvakudosta oli 67,5 %:lla tutkimushenkilöistä. Aiemmissä tutkimuksissa aktiivista kudosta on havaittu noin 50 %:lla 20–35-vuotiaista ja noin 10 %:lla yli 40-vuotiaista (Saito ym., 2009; Yoneshiro ym., 2011). Tähän tutkimukseen osallistuneet henkilöt olivat keskimääräisesti 35-vuotiaita, joten aktiivista kudosta havaittiin ikään nähden tavallista useammilla. Ruskean rasvakudoksen aktiivisuuden tiedetään siis vähenevän ikääntyessä, mutta odotusten vastaisesti tässä tutkimuksessa ikä ei korreloinut negatiivisesti ruskean rasvan aktiivisuuden kanssa ja aktiivista kudosta oli vielä 83 %:lla yli 40-vuotiaista tutkimushenkilöistä (n=12).

Kuten aiemman tutkimustiedon perusteella odotettiin, glukoosin sisäänotto kylmäaktivoituvassa ruskeassa rasvakudoksessa korreloi negatiivisesti painoindeksin kanssa ja oli merkittävästi suurempaa normaalipainoisilla kuin ylipainoisilla tutkimushenkilöillä. Useimmilla ylipainoisilla tutkimushenkilöillä soliskuoppien alueella näkyi CT-kuvissa runsaasti rasvakudosta, mutta PET-kuvissa havaittu matala aktiivisuus viittaa siihen, että ruskean rasvakudoksen sijaan soliskuopissa on pääasiassa valkoista rasvakudosta tai inaktiivista beigeä rasvakudosta. Osalla tutkimushenkilöistä metabolinen aktiivisuus soliskuoppien rasvakudoksessa kuitenkin lisääntyi interventiossa toistuvien kylmäältistysten seurauksena. Glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen lisääntyi viidestä tutkimushenkilöstä kolmella, joista yhdellä muutos oli jopa 144 % verrattuna lähtötilanteeseen. Myös glukoosin sisäänoton mediaaniarvo oli intervention



jälkeen 67 % suurempi kuin ennen interventiota. Odotusten mukaisesti glukoosin sisäänotto ruskeassa rasvassa lisääntyi eniten niillä tutkimushenkilöillä, joilla havaittiin metabolisesti aktiivista kudosta jo ennen interventiota ( $BAT\ GU \geq 3,0\ \mu\text{mol}/100\ \text{g}\cdot\text{min}$ ).

Interventiotutkimus kesti kokonaisuudessaan 5–9 kuukautta, minkä vuoksi muutamien tutkimushenkilöiden kohdalla vuodenaajat ehtivät vaihtua ensimmäisen ja toisen PET-kuvauksen välillä. Ulkolämpötilojen on havaittu vaikuttavan ruskean rasvan aktiivisuuteen (Hany ym., 2002; Saito ym., 2009), joten vuodenaajan muutosta voidaan pitää mahdollisena selityksenä sille, miksi yhdellä tutkimushenkilöllä glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen oli vähentynyt intervention jälkeen ja yhdellä se oli pysynyt samana. Kyseisen tutkimushenkilön kohdalla ensimmäinen kuvaus oli marraskuussa ja toinen kuvaus toukokuussa. Vaikka glukoosin sisäänoton keskiarvo ei muuttunut tilastollisesti merkitsevästi kylmäintervention myötä, tulokset ovat kuitenkin lupaavia, kun otetaan huomioon tutkimuksen hyvin pieni otoskoko. Tutkimushenkilöiden pienen määrän vuoksi intervention aiheuttamia muutoksia ei voida täysin luotettavasti mitata tilastollisilla testeillä, mutta tuloksia voidaan kuitenkin pitää suuntaa antavina.

Toistuvien kylmäaltistuksien vaikutuksia ruskean rasvan aktiivisuuteen tutkittiin myös vertaamalla avantouimareiden ja ei-avantouimareiden mittaustuloksia. Myös avantouimareiden kohdalla haasteeksi muodostui tutkimushenkilöiden pieni määrä, sillä heitä oli vain 5 normaalipainoisten ryhmässä sekä 5 ylipainoisten ryhmässä, kun taas ei-avantouimareita oli 15 molemmissa painoindeksiryhmissä. Koska tutkimushenkilöiden määrä jakautui hyvin epätasaisesti ryhmien välillä, voi keskiarvojen vertailu antaa vääristyneen kuvan mittaustuloksista. Tällöin on hyvä ottaa huomioon myös ryhmien mediaaniarvot, joihin yksittäiset ääriarvot ryhmän sisällä eivät vaikuta yhtä paljon kuin keskiarvoihin. Sekä normaali- että ylipainoisten ryhmässä glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen oli suurempaa avantouimareilla, kun verrattiin mediaaniarvoja. Tulos viittaa siihen, että avantouintiharrastuksella voi mahdollisesti olla ruskean rasvakudoksen aktiivisuutta lisäävä vaikutus.

Avantouinnin vaikutusten pohdinnassa tulee kuitenkin ottaa huomioon, että glukoosin sisäänotossa oli melko suurta hajontaa myös avantouimareiden välillä. Normaalipainoisista avantouimareista kolmella glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen oli todella suurta (yli  $10\ \mu\text{mol}/100\ \text{g}\cdot\text{min}$ ), kun taas kahdella glukoosin sisäänotto oli hyvin vähäistä (alle  $2\ \mu\text{mol}/100\ \text{g}\cdot\text{min}$ ). Ylipainoisten ryhmässä hajonta oli pienempää. Tässä tutkimuksessa avantouimareiden ryhmään kuuluivat kaikki tutkimushenkilöt, jotka ilmoittivat käyvänsä avannossa säännöllisesti (vähintään kerran

viikossa). Avantokäyntien tiheyteen tai vedessä vietettävään aikaan ei kiinnitetty enempää huomiota, vaan samaan ryhmään kuului tutkimushenkilöitä, jotka harrastivat avantouintia kerran viikossa, kolmesti viikossa tai jotain siltä väliltä. Erot kylmälähtöjen pituudessa ja tiheydessä voivat osittain selittää vaihtelua ruskean rasvakudoksen aktiivisuudessa. Lisäksi on tärkeää pohtia myös sattuman mahdollisuutta, sillä avantouimareiden pienen otoskoon vuoksi ruskean rasvakudoksen aktiivisuuden ja avantouinnin välillä ei voida todistaa olevan yhteyttä. Lähtökohtaisesti voidaan olettaa, että tutkimukseen osallistuneet avantouimarit yleensä saunovat avannon yhteydessä. On mahdollista, että avantouinti saunomiseen yhdistettynä ei ole paras kylmälähtömuoto ruskean rasvan aktivoinnin kannalta, sillä saunassa elimistö lämpenee kuumen ympäristön vaikutuksesta. Ruskean rasvan kylmäaktivaatiota ajatellen hyödyllisempää olisi avantouinnin jälkeen antaa kehon palautua termoneutraaliuuteen huoneenlämmössä, jolloin non-shivering-termogeneesi aktivoituisi tehokkaasti.

Kun saunomisen vaikutus otetaan huomioon, herää epäily, että tässä tutkimuksessa avantouinti ei välttämättä ollut syynä ruskean rasvakudoksen korkeaan aktiivisuuteen kolmella edellä mainitulla normaalipainoisella avantouimarilla. Kyseiset tutkimushenkilöt olivat naisia, kun taas kaksi normaalipainoista avantouimaria, joilla glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen oli hyvin vähäistä, olivat miehiä. Aktiivista ruskeaa rasvakudosta on aiemmissa tutkimuksissa havaittu olevan yleensä enemmän naisilla kuin miehillä (Hany ym., 2002; Cypess ym., 2009), joten on mahdollista, että myös sukupuoli vaikutti tuloksiin. Tässä tutkimuksessa glukoosin sisäänotossa ruskeaan rasvakudokseen ei kuitenkaan havaittu merkitsevää eroa kaikkien naisten ja miesten keskiarvoissa, tosin ryhmiä ei voitu täysin luotettavasti vertailla, sillä naisia oli huomattavasti enemmän kuin miehiä (n=28 ja n=12). Avantouinnin vaikutuksia on tarkasteltu myös aikaisemmin tanskalaisessa tutkimuksessa, jossa ei havaittu eroa glukoosin sisäänotossa ruskeaan rasvakudokseen avantouimareiden ja ei-avantouimareiden välillä (Søberg ym., 2021).

#### 4.1.2 Aktiivisen ruskean rasvakudoksen vaikutukset elimistön glukoosimetaboliaan

Glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen korreloi negatiivisesti paastoglukoosi- ja paastoinsuliinipitoisuuden kanssa, mikä viittaa siihen, että metabolisesti aktiivinen ruskea rasvakudos voi lisätä kudosten insuliiniherkkyyttä ja ehkäistä veren hyperglykemiaa

ottamalla glukoosia termogeneesin energianlähteeksi sekä lisäämällä sen siirtymistä elimistön muihin kudoksiin. Tulokset ovat linjassa myös aiempien tutkimuksien kanssa, joissa tutkimushenkilöt jaettiin ruskean rasvakudoksen glukoosin sisäänoton mukaan korkean ja matalan aktiivisuuden ryhmiin ja plasman glukoosi- ja insuliinipitoisuuksien havaittiin olevan matalampia korkean aktiivisuuden ryhmissä (Matsushita ym., 2014; Zhang ym., 2013). Glukoosin sisäänotto ruskeassa rasvakudoksessa korreloi myös positiivisesti dispositioindeksin kanssa, minkä lisäksi ylipainoisilla ruskean rasvakudoksen korkean aktiivisuuden ryhmässä HOMA-IR-arvo ja Matsuda-indeksi olivat merkittävästi paremmat kuin matalan aktiivisuuden ryhmässä. Normaalipainoisilla matalan ja korkean aktiivisuuden ryhmiä ei voitu luotettavasti vertailla, sillä tutkimushenkilöt jakautuivat ryhmiin hyvin epätasaisesti. Matalan aktiivisuuden ryhmään kuului vain 4 tutkimushenkilöä ja korkean aktiivisuuden ryhmään 16. Kylmäintervention myötä lisääntynyt glukoosin sisäänotto ruskeaan rasvakudokseen saattoi vaikuttaa positiivisesti myös koko elimistön glukoosimetaboliaan, sillä intervention jälkeen HOMA-IR-arvo sekä paastoglukoosi- ja paastoinsuliinipitoisuus olivat hieman matalammat, minkä lisäksi Matsuda-indeksi oli hieman korkeampi kuin ennen interventiota. Muutokset eivät olleet tilastollisesti merkitseviä, mutta ne vastasivat hypoteesia ja innostavat tutkimaan aihetta lisää. Näiden tulosten valossa vaikuttaa melko varmalta, että aktiivinen ruskea rasvakudos voi ehkäistä tyypin II diabeteksen kehittymistä lisäämällä elimistön insuliiniherkkyyttä ja vaikutus havaitaan erityisesti ylipainoisilla.

Glukoosin sisäänotto ruskeassa rasvakudoksessa korreloi negatiivisesti myös maksan glukoosituotantoa kuvaavan EGP-arvon kanssa, tosin näiden muuttujien välillä tuskin on suoraa yhteyttä. Ruskean rasvakudoksen metabolinen aktiivisuus voi kuitenkin vaikuttaa maksan glukoosituotantoon välillisesti lisäämällä maksan insuliiniherkkyyttä, jolloin insuliinin glukoneogeneesiä inhiboiva vaikutus voimistuu maksassa ja glukoosin uudistuotanto vähenee. On edelleen epäselvää, millä mekanismilla ruskea rasvakudos lisää kudosten insuliiniherkkyyttä, mutta aktivoituneen ruskean rasvan erittämiä batokiineja pidetään potentiaalisena vaihtoehtona. Esimerkiksi interleukiini 6 (IL-6) ja fibroblastien kasvutekijä 21 (FGF 21) ovat ruskean rasvakudoksen erittämiä hormoneja, joilla on havaittu olevan elimistön insuliiniherkkyyttä lisääviä ominaisuuksia (Stanford ym., 2013).

#### 4.1.3 Ylipainon vaikutukset elimistön glukoosimetaboliaan ja maksan toimintaan

Painoindeksi ja vyötärön ympärysmitta korreloivat positiivisesti paastoinsuliini- ja paastoglukoosipitoisuuden sekä HOMA-IR-arvon kanssa ja negatiivisesti Matsuda-indeksin ja dispositioindeksin kanssa. Lisäksi kyseiset arvot olivat huomattavasti paremmat normaalipainoisten ryhmässä verrattuna ylipainoisten ryhmään. Ylipainon todistettiin siis olevan yhteydessä elimistön heikentyneeseen insuliiniherkkyyteen johtaen veren kohonneisiin paastoglukoosi- ja -insuliinipitoisuuksiin. Kun tehdään johtopäätöksiä keskiarvojen perusteella, on hyvä myös kiinnittää huomiota ylipainoisten tutkimushenkilöiden yksilöllisiin eroihin. Sokerirasitusindeksien ja paastoinsuliinipitoisuuden kohdalla hajonta oli ylipainoisten ryhmässä melko suurta verrattuna hajontaan normaalipainoisten ryhmässä, mihin vaikuttanee ylipainoisten erittäin suuri painoindeksiskaala. Normaalipainoisten ryhmässä painoindeksit vaihtelivat  $20 \text{ kg/m}^2$  ja  $26 \text{ kg/m}^2$  välillä, kun taas ylipainoisten ryhmässä painoindeksit vaihtelivat  $28 \text{ kg/m}^2$  ja  $49 \text{ kg/m}^2$  välillä. Lievä ylipaino harvoin vaikuttaa merkittäväällä tavalla elimistön glukoosimetaboliaan, mutta mitä enemmän ylimääräistä rasvakudosta on erityisesti sisäelinten ympärillä, sitä suurempi on riski glukoosimetabolian häiriöille. Näin ollen tässä tutkimuksessa muuttujien väliset korrelaatiot osoittautuivat lopulta kertomaan ylipainon ja glukoosimetabolian yhteydestä luotettavammin kuin ryhmien keskiarvot.

Ylipainon havaittiin vaikuttavan voimakkaasti myös maksan toimintaan, sillä painoindeksi ja vyötärön ympärysmitta korreloivat positiivisesti maksan glukoosituotantoa kuvaavan EGP-arvon sekä maksaentsyymipitoisuuksien kanssa. EGP-arvo ja maksaentsyymipitoisuudet eivät kuitenkaan eronneet normaali- ja ylipainoisten ryhmien välillä merkitsevästi, mistä voidaan päätellä, että ylipainoa tulee olla huomattava määrä ennen kuin se alkaa häiritä maksan normaalia fysiologiaa. Kohonneet maksaentsyymipitoisuudet viestivät hepatosyyttien vaurioitumisesta, joka voi olla seurausta esimerkiksi ylipainon aiheuttamasta maksan rasvoittumisesta, matala-asteisesta tulehduksesta tai insuliiniresistenssin aiheuttamista maksan aineenvaihduntahäiriöistä. Ylipainon aiheuttama insuliiniresistenssi maksassa lisää glukoneogeneesiä, minkä vuoksi myös ylipainon ja EGP-arvon välillä havaittiin positiivinen korrelaatio. Runsas glukoneogeneesi edistää maksan rasvoittumista, mikä lisää hepatosyyttien vaurioitumista ja maksaentsyymien eritystä. Näin ollen myös EGP-arvon ja maksaentsyymien välillä havaitut positiiviset korrelaatiot ovat hyvin loogisia. Paastotilassa veren

glukoosipitoisuus kuvaa maksan glykogenolyysin ja glukoneogeneesin määrää, mikä selittää EGP-arvon ja paastoglukoosin välisen positiivisen korrelaation.

Ylipainoisilla painoindeksi ja paino korreloivat negatiivisesti myös glukoosin sisäänottoa maksaan kuvaavan HGU-arvon kanssa. Glukoosin sisäänotto maksaan tapahtuu pääasiassa GLUT2-glukoosikuljettimilla, jotka eivät ole insuliiniriippuvaisia, vaan avustavat glukoosin kuljetuksessa gradientin mukaisesti verenkierrosta hepatosyytteihin. Maksan rasvoittuminen vaikuttaa GLUT2-kuljettimien toimintaan esimerkiksi tulehdusreaktion ja rasvasolujen erittämien adipokiinien välityksellä, minkä vuoksi glukoosin kuljetus maksaan häiriintyy. Lisäksi maksassa on myös insuliiniriippuvaisia glukoosikuljettimiä, minkä vuoksi ylipainon aiheuttama insuliiniresistenssi myös osaltaan hidastaa glukoosin kuljetusta maksaan. Maksan HGU-arvon olisi täten voinut olettaa korreloivan negatiivisesti elimistön systeemistä insuliiniresistenssiä kuvaavien muuttujien, kuten paastoglukoosi- tai paastoinsuliinipitoisuuden tai HOMA-IR-arvon kanssa tai positiivisesti Matsuda-indeksin kanssa, mutta näin ei kuitenkaan tapahtunut. Vaikka vähentynyt glukoosin sisäänotto maksaan on usein yhteydessä systeemiseen insuliiniresistenssiin, on kuitenkin mahdollista, että ylipainon aiheuttama maksan rasvoittuminen häiritsee maksan glukoosimetaboliaa myös muilla mekanismeilla ilman systeemistä insuliiniresistenssiä (Singh ym., 2015). Kokonaisuudessaan maksan glukoosi- ja triglyseridimetaboliat ovat hyvin monimutkaisia prosesseja, joihin vaikuttavat sekä perimä että useat ympäristötekijät. Tulee myös muistaa, että glukoosin sisäänotto maksaan lisääntyy erityisesti aterioiden jälkeen, minkä vuoksi maksan glukoosinsietokyvystä saataisiin luotettavampaa tietoa, jos HGU-arvo mitattaisiin aterian jälkeen, eikä paastotilassa.

## **4.2 Tutkimuksen rajoitukset sekä aiheita jatkotutkimuksille**

Ruskean rasvakudoksen metabolinen aktiivisuus määritettiin tässä tutkimuksessa dynaamisella PET-kuvantamisella hyödyntäen [<sup>18</sup>F] FDG-merkkiainetta. PET-kuvantaminen on erittäin herkkä kuvantamismenetelmä, jolla ruskean rasvakudoksen ja maksan glukoosimetaboliaa voidaan tutkia kajoamattomasti ja tarkasti. PET-kuvantamisessa on kuitenkin myös omat rajoituksensa, joiden vuoksi tutkimustulokset voivat toisinaan vääristyä. Kuvantamisen aikana pitäisi pysytellä täysin paikallaan, mikä oli haastavaa muutamalle tutkimushenkilölle. Merkkiainekertymien anatomisen sijainnin

määrittämiseksi PET-kuvat yhdistetään aina CT-kuvaan, joka otetaan ennen PET-kuvauksen aloittamista. Mikäli tutkimushenkilö liikahtaa CT-kuvan ottamisen jälkeen, PET-kuvat eivät ole anatomisesti kohdillaan CT-kuvan kanssa ja menetelmän tarkkuus kärsii. Analyysialueiden piirtäminen ruskeaan rasvakudokseen on kudoksen pienen koon ja epämääräisen muodon vuoksi hyvin pikkutarkkaa työtä, joten vain muutaman sentin liikkahdus voi merkittävästi vaikeuttaa tulosten tulkintaa.

Ruskean rasvan aktiivisuuteen PET-kuvauksen aikana saattoivat vaikuttaa akuutin kylmäaltistuksen lisäksi myös muut tekijät, jotka muuttivat tuloksia. PET-kuvantaminen on useimmille ihmisille ennestään tuntematon ja mahdollisesti epämiellyttävä toimenpide ahtaan tilan vuoksi, minkä takia tutkimushenkilöt saattoivat jännittää kuvausta. Jännitys aktivoi sympaattista hermostoa, joka puolestaan aktivoi ruskeaa rasvakudosta. Näin ollen voimakas jännitys saattoi voimistaa kylmäaktivaation vaikutusta johtaen ruskean rasvakudoksen suurempaan aktiivisuuteen. Vuodenaikojen vaihteluita ei otettu tässä tutkimuksessa huomioon, mikä mahdollisesti vaikutti myös tuloksiin, sillä PET-kuvauksia tehtiin vuoden ympäri. Noin 83 % tutkimuksen I kuvauksista ajoittuivat kuitenkin vuoden kylmiin kuukausiin (loka–maaliskuu), joten yksilölliset vaihtelut tuskin vaikuttivat keskiarvoihin merkittäväällä tavalla. Tulevissa tutkimuksissa vuodenaikat olisi kuitenkin hyvä ottaa huomioon, sillä vallitsevan ulkolämpötilan tiedetään vaikuttavan ruskean rasvan aktiivisuuteen.

Myös muiden olosuhteiden standardointi on tärkeää, jotta tutkimushenkilöiden mittaustulokset ovat vertailukelpoisia. Tutkimuksessa I kaikkien tutkimushenkilöiden kohdalla noudatettiin samaa tutkimusprotokollaa ja poikkeukset siitä olivat harvinaisia. Akuutti kylmäaltistus ei kuitenkaan vaikuta samalla tavalla kaikkiin henkilöihin, vaan yksilöiden välillä ilmeni suuria eroja siinä, kuinka nopeasti ihon lämpötila laski viidellä asteella. Nykyisen tutkimustiedon perusteella ei myöskään tarkalleen tiedetä, kuinka voimakas kylmäaltistus ruskean rasvakudoksen aktivoimiseen on riittävä tai miten esimerkiksi henkilön sukupuoli tai ylipaino mahdollisesti vaikuttavat vaadittavan kylmäaltistuksen voimakkuuteen. Näin ollen kylmäaltistuksen toteuttaminen samalla protokollalla kaikille tutkimushenkilöille ei kuitenkaan välttämättä aiheuta aina samanlaista fysiologista vastetta.

Kylmäintervention toteutuksessa puolestaan oli vaihtelua pääasiassa käytännön järjestelyiden vuoksi. Säännöllisten kylmäaltistusvierailujen sovittaminen tutkimushenkilöiden aikatauluihin oli toisinaan haastavaa, minkä vuoksi kylmäaltistuksia

kertyi lopulta hieman eri määrä kaikille tutkimushenkilöille (15–18) ja ne sijoituivat eripituisille ajanjaksoille (5–11 viikkoa). Pisin interventio kesti siis yli kaksinkertaisen ajan lyhimpään verrattuna, mikä tarkoittaa, että intervention intensiivisyydessä oli merkittäviä eroja. Nykyisen tutkimustiedon perusteella ei vielä tiedetä, miten kylmäältistusten tiheys mahdollisesti vaikuttaa ruskean rasvakudoksen aktivointiin, minkä vuoksi tulosten tasapuolisen vertailun mahdollistamiseksi altistuskertojen lukumäärä ja intervention pituus olisi tulevissa tutkimuksissa hyvä pyrkiä pitämään samana kaikilla tutkimushenkilöillä. Vaihtoehtoisesti tutkimushenkilöt voitaisiin jakaa kahteen vertailuryhmään, joista toinen suorittaisi intervention lyhyen ajan sisällä ja toinen pidemmän ajan sisällä. Tällöin voitaisiin tutkia myös intervention intensiteetin mahdollisia vaikutuksia ruskean rasvakudoksen aktivointiin.

Koska intervention jokainen kylmäältistus kesti vähintään 30 minuuttia kerrallaan, termogeneesi ruskeassa rasvakudoksessa aktivoitui todennäköisesti jo altistuksen aikana. Aktivoitumisen pitkittämiseksi olisi kuitenkin hyödyllistä, että kehoa ei lämmitettäisi jälkepäin esimerkiksi kuumalla suihkulla, saunalla tai voimakkaalla lihasharjoittelulla. Jos osa tutkimushenkilöistä lämmitti itseään kyseisillä tavoilla kylmäältistusten jälkeen, saattoi se pysäyttää ruskean rasvan kylmäaktivaation ja vähentää täten intervention hyödyllisiä vaikutuksia. Tutkimushenkilöiden toimintaa altistusta seuraavan loppupäivän aikana ei voitu kontrolloida, joten lämmittelyn mahdollisia vaikutuksia ei pystytty tässä tutkimuksessa arvioimaan. Kokonaisuudessaan kylmäinterventiota voidaan pitää onnistuneena preliminääritutkimuksena, jonka tulokset rohkaisevat tutkimaan aiheutta lisää suuremmalla otoskoolla. Myös avantouinnin vaikutuksia olisi kiinnostavaa tutkia tulevaisuudessa suuremmalla otoskoolla, jolloin tuloksista voisi tehdä selkeämpiä johtopäätöksiä. Jotta mahdolliset erot ruskean rasvan aktiivisuudessa voitaisiin todistaa selkeästi johtuvan avantouinnista, olisi hyödyllistä toteuttaa seurantatutkimus henkilöille, jotka aloittaisivat avantouinnin uutena harrastuksena. Avantouinnin vaikutuksia voitaisiin tällöin selvittää tekemällä mittauksia ennen harrastuksen aloittamista ja uudelleen esimerkiksi vuoden kuluttua.

### 4.3 Yhteenveto

Tässä pro gradu -tutkielmassa tarkasteltiin aktiivisen ruskean rasvakudoksen vaikutuksia elimistön glukoosimetaboliaan. Tutkimuksessa vertailtiin ruskean rasvakudoksen aktivoitumista akuutissa kylmäältistuksessa normaalipainoisilla ja ylipainoisilla tutkimushenkilöillä, sekä tutkittiin, onko ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus yhteydessä elimistön hyvään glukoosimetaboliaan. Tutkimuksessa selvitettiin myös, onko ruskea rasvakudos aktiivisempaa avantouintia harrastaneilla tutkimushenkilöillä ja lisääntyykö kudoksen aktiivisuus ylipainoisilla säännöllisten kylmäältistusten seurauksena. Ruskean rasvakudoksen metabolista aktiivisuutta mitattiin akuutin kylmäältistuksen aikana PET-kuvantamisella hyödyntäen [<sup>18</sup>F] FDG-merkkiainetta. Elimistön glukoosimetaboliaa mitattiin sokerirasitustestillä, minkä lisäksi verinäytteistä mitattiin paastoglukoosi- ja paastoinsuliinipitoisuudet sekä HbA1c-arvo. Maksan toimintaa tutkittiin laskemalla maksan sisään ottaman glukoosin määrä (HGU) sekä maksan tuottaman glukoosin määrä (EGP), minkä lisäksi verinäytteistä mitattiin maksasolujen terveydentilasta kertovien entsyymien P-ALAT-, P-AFOS- ja P-GT-pitoisuudet.

Tutkimuksen tulokset osoittivat, että ruskea rasvakudos oli selvästi aktiivisempaa normaalipainoisilla kuin ylipainoisilla tutkimushenkilöillä ja kudoksen aktiivisuus oli yhteydessä elimistön hyvään insuliiniherkkyyteen. Normaalipainoiset olivat insuliiniherkempiä kuin ylipainoiset, minkä lisäksi ylipaino oli yhteydessä maksan heikentyneeseen glukoosimetaboliaan ja kohonneisiin maksaentsyymipitoisuuksiin. Ruskean rasvakudoksen kylmäaktivoituminen lisääntyi toistuvien kylmäältistuksien seurauksena osalla ylipainoisista tutkimushenkilöistä, mutta elimistön glukoosimetaboliassa ei tapahtunut merkittäviä muutoksia. Avantouinnin vaikutuksista ei tässä tutkimuksessa voitu tehdä selviä johtopäätöksiä, mutta aiempien tutkimuksien valossa vaikuttaa siltä, että avantouinti saunomiseen yhdistettynä ei välttämättä ole paras kylmäältistuksen muoto ruskean rasvakudoksen aktivoinnin kannalta. Kokonaisuudessaan tutkimuksen tulokset osoittivat, että ruskean rasvakudoksen korkea aktiivisuus lisää elimistön insuliiniherkkyyttä ja voi täten mahdollisesti ehkäistä glukoosimetabolian häiriöitä.



## 5. KIITOKSET

Haluan kiittää Kirsi Virtasta mahdollisuudesta osallistua MOTORBAT-projektiin sekä avusta erityisesti gradun aiheen rajaamisessa. Olen kiitollinen koko ruskean rasvan tutkimusryhmälle, jonka osana sain tehdä merkityksellistä ja kiinnostavaa tutkimusta. Erityiskiitoksen ansaitsevat graduohjaajani Teemu Saari käytännön avusta PET-keskuksella sekä Tiina Henttinen neuvoista kirjoitusprosessissa. Kiitos myös kaikille ystäväilleni, joiden opiskeluseura on ollut korvaamatonta kuluneen vuoden aikana, sekä perheelleni ja avopuolisolleni horjumattomasta tuesta.

## LÄHDEVIITTEET

Abate, N., Garg, A., Peshock, R.M., Stray-Gundersen, J., Grundy, S.M. (1995). Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. *J. Clin. Invest.* Jul;96(1):88-98.

Aherne, W., and Hull, D. (1966). Brown adipose tissue and heat production in the newborn infant. *J. Pathol. Bacteriol.* 91, 223–234.

Anand, S.S., Singh, H., Dash, A.K. (2009). Clinical Applications of PET and PET-CT. *Med. journal, Armed Forces India.* 65, 353–8.

Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J.I., Hotta, K., Shimomura, I., Nakamura, T., Miyaoka, K. (1999). Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 257, 79–83.

Bartelt, A., Bruns, O.T., Reimer, R., Hohenberg, H., Ittrich, H., Peldschus, K., Kaul, M.G., Tromsdorf, U.I., Weller, H., Waurisch, C., Eychmüller, A., Gordts, P.L.S.M., Rinninger, F., Bruegelmann, K., Freund, B., Nielsen, P., Merkel, M., Heeren, J. (2011). Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat. Med.* 17, 200–205.

Becher, T., Palanisamy, S., Kramer, D.J. (2021). Brown adipose tissue is associated with cardiometabolic health. *Nat. Med* 27, 58–65.

Berbeé, J.F.P., Boon, M.R., Khedoe, P.P.S.J., Bartelt, A., Schlein, C., Worthmann, A., Kooijman, S., Hoeke, G., Mol, I.M., John, C., Jung, C., Vazirpanah, N., Brouwers, L.P.J., Gordts, P.L.S.M., Esko, J.D., Hiemstra, P.S., Havekes, L.M., Scheja, L., Heeren, J., Rensen, P.C.N. (2015). Brown fat activation reduces hypercholesterolaemia and protects from atherosclerosis development. *Nat. Commun.* 6, 6356.

Bhatt, P.S., Dhillon, W.S., Salem, V., (2017). Human brown adipose tissue-function and therapeutic potential in metabolic disease. *Curr. Opin. Pharmacol.* 37, 1–9.

Blondin, D., Labbé, S.M., Noll, C., Kunach, M., Phoenix, S., Guérin, B., Turcotte, É.E., Haman, F., Richard, D., Carpentier, A.C. (2015). Selective impairment of glucose but not

fatty acid or oxidative metabolism in brown adipose tissue of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes*. 64, 2388–2397.

Blondin, D., Tingelstad, H., Noll, C., Frisch, F., Phoenix, S., Gurin, B., Turcotte, ric E., Richard, D., Haman, F., Carpentier, A. (2017). Dietary fatty acid metabolism of brown adipose tissue in cold-acclimated men. *Nat. Commun.* 8, 14146.

Brenke, R. (1990). Winter swimming - An extreme form of body hardening. *Therapeutikon*. 4, 466-472.

Carpentier, A.C., Blondin, D.P., Virtanen, K.A., Richard, D., Haman, F., Turcotte, É.E. (2018). Brown Adipose Tissue Energy Metabolism in Humans. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 9, 1–21.

Cherrington, A.D., Moore, M.C., Sindelar, D.K. & Edgerton, D.S. (2007). Insulin action on the liver in vivo. *Biochemical Society transactions*, vol. 35, no. Pt 5, pp. 1171-1174.

Cinti S. (2009). Transdifferentiation properties of adipocytes in the adipose organ. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 297: E977-86.

Costanzo, LS. (2018). *Physiology*, 6th Edition.

Cypess, A.M., Lehman, S., Williams, G., Tal, I., Rodman, D., Goldfine, A.B., Kuo, F.C., Palmer, E.L., Tseng, Y.-H., Doria, A., Kolodny, G.M., Kahn, C.R. (2009). Identification and Importance of Brown Adipose Tissue in Adult Humans. *N. Engl. J. Med.* 360, 1509–1517.

Cypess, A.M., Weiner, L.S., Roberts-Toler, C., Elía, E.F., Kessler, S.H., Kahn, P.A., English, J., Chatman, K., Trauger, S.A., Doria, A., Kolodny, G.M. (2015). Activation of human brown adipose tissue by a  $\beta$ 3-adrenergic receptor agonist. *Cell Metab.* 21, 33–38.

Dadson, P., Hannukainen, J.C., Din, M.U., Lahesmaa, M., Kalliokoski, K.K., Iozzo, P., Pihlajamäki, J., Karlsson, H.K., Parkkola, R., Salminen, P., Virtanen, K.A., Nuutila, P. (2018). Brown adipose tissue lipid metabolism in morbid obesity: Effect of bariatric surgery-induced weight loss. *Diabetes Obes. Metab.* May;20(5):1280-1288.

DeGrado, T.R., Coenen, H.H., Stocklin, G., (1991). 14(R, S)-[18F] fluoro-6-thiaheptadecanoic acid (FTHA): evaluation in mouse of a new probe of myocardial utilization of long chain fatty acids. *J. Nucl. Med.* 32, 1888–1896.

Diabetesliitto. (2020).

[https://www.diabetes.fi/diabetes/yleista\\_diabeteksesta/tilastotietoa](https://www.diabetes.fi/diabetes/yleista_diabeteksesta/tilastotietoa). Viitattu 10.12.2023.

- Duncan, R.E., Ahmadian, M., Jaworski, K., Sarkadi-Nagy, E., Sul, H.S. (2007). Regulation of lipolysis in adipocytes. *Annu. Rev. Nutr.* 27:79–101.
- Einarson, T.R., Acs, A., Ludwig, C., Panton, U.H. (2018). Economic burden of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic review. *Value Heal.* 21:881–90.
- Ghorbani, M., Claus, T.H., Himms-Hagen, J. (1997). Hypertrophy of brown adipocytes in brown and white adipose tissues and reversal of diet-induced obesity in rats treated with a  $\beta$ 3-adrenoceptor agonist. *Biochemical Pharmacology* 54, 121–131.
- Hanssen, M.J., van der Lans, A.A., Brans, B., Hoeks, J., Jardon, K.M., Schaart, G., Mottaghy, F.M., Schrauwen, P., van Marken Lichtenbelt, W.D. (2016). Short-term Cold Acclimation Recruits Brown Adipose Tissue in Obese Humans. *Diabetes.* 65, 1179–1189.
- Hany, T.F., Gharehpapagh, E., Kamel, E.M., Buck, A., Himms-Hagen, J., Von Schulthess, G.K. (2002). Brown adipose tissue: A factor to consider in symmetrical tracer uptake in the neck and upper chest region. *Eur. J. Nucl. Med.* 29, 1393– 1398.
- Harms, M., Seale, P. (2013). Brown and beige fat: development, function, and therapeutic potential. *Nature Medicine.* 19:10 19, 1252–1263.
- Hanssen, M.J., van der Lans, A.A., Brans, B., Hoeks, J., Jardon, K.M., Schaart, G., Mottaghy, F.M., Schrauwen, P., van Marken Lichtenbelt, W.D. (2016). Short-term Cold Acclimation Recruits Brown Adipose Tissue in Obese Humans. *Diabetes.* 65, 1179–1189.
- Hermanussen, M., Jensen, F., Hirsch, N., Friedel, K., Kröger, B., Lang, R., Just, S., Ulmer, J., Schaff, M., Ahnert, P. (1995). Acute and chronic effects of winter swimming on LH, FSH, prolactin, growth hormone, TSH, cortisol, serum glucose and insulin. *Arctic Med. Res.* Jan;54(1):45–51.
- Huttunen, P., Hirvonen, J., Kinnula, V. (1981). The Occurrence of Brown Adipose Tissue in Outdoor Workers. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 46.4: 339–345.
- Huttunen, P., Lando, N.G., Meshtsheryakov, V.A., Lyutov, V.A. (2000). Effects of long-distance swimming in cold water on temperature, blood pressure and stress hormones in winter swimmers. *Journal of thermal biology.* 25(1–2):171-174.
- Iozzo, P., Jarvisalo, M.J., Kiss, J., Borra, R., Naum, G.A., Viljanen, A., Viljanen, T., Gastaldelli, A., Buzzigoli, E., Guiducci, L., Barsotti, E., Savunen, T., Knuuti, J.,

- Haaparanta-Solin, M., Ferrannini, E., Nuutila, P. (2007). Quantification of liver glucose metabolism by positron emission tomography: validation study in pigs. *Gastroenterology*. Feb;132(2):531–42.
- Janatuinen, T., Kemppainen, J. (2020). PET-kuvantamisen menetelmät yleistajuisesti. *Lääketieteellinen aikakausikirja duodecim*. 136(9):1062–7.
- Kahn, S.E., Prigeon, R.L., McCulloch, D.K., Boyko, E.J., Bergman, R.N., Schwartz, M.W., Neifing, J.L., Ward, W.K., Beard, J.C., Palmer, J.P. (1993). Quantification of the relationship between insulin sensitivity and  $\beta$ -cell function in human subjects: evidence for a hyperbolic function. *Diabetes*. Aug;42(8):1663-72.
- Khan, M.A.B., Hashim, M.J., King, J.K., Govender, R.D., Mustafa, H., Al Kaabi, J. (2020). Epidemiology of Type 2 Diabetes - Global Burden of Disease and Forecasted Trends. *J. Epidemiol. Glob. Health*. Mar;10(1):107–111.
- Kurkela, O., Raitanen, J., Tuovinen, M., Ilanne-Parikka, P., Forma, L. (2022). Lisäsairaudet voivat moninkertaistaa tyypin 2 diabetespotilaan terveydenhuollon kustannukset. *Suomen lääkärilehti*. 77: e32697.
- Kooijman, S., van den Heuvel J.K, Rensen, P.C.N. (2015). Neuronal control of brown fat activity. *Trends Endocrinol. Metab*. 26:657–68.
- Kralova Lesna, I., Rychlikova, J., Vavrova, L., Vybiral, S. (2015). Could human cold adaptation decrease the risk of cardiovascular disease? *J. Therm. Biol*. Aug; 52:192–8.
- Laakso, M. (2005). Metabolisen oireyhtymän uudet kriteerit ja hoito. *Lääketieteellinen aikakausikirja Duodecim*.121(14):1521–30.
- Lahesmaa, M., Eriksson, O., Gnad, T., Oikonen, V., Bucci, M., Hirvonen, J., Koskensalo, K., Teuho, J., Niemi, T., Taittonen, M., Lahdenpohja, S., U Din, M., Haaparanta-Solin, M., Pfeifer, A., Virtanen, K.A., Nuutila, P. (2018). Cannabinoid Type 1 Receptors Are Upregulated During Acute Activation of Brown Adipose Tissue. *Diabetes*. Jul;67(7):1226–1236.
- Lahesmaa, M., Orava, J., Schalin-Jäntti, C., Soinio, M., Hannukainen, J.C., Noponen, T., Kirjavainen, A., Iida, H., Kudomi, N., Enerbäck, S., Virtanen, K.A., Nuutila, P. (2014). Hyperthyroidism increases brown fat metabolism in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. Jan;99(1): E28-35.

- Laurila, S., Lahesmaa, M., Nuutila, P., Virtanen, K.A. (2020). Ruskean rasvan toiminta ja merkitys. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim*. 136(6):625–32.
- Lee, P., Smith, S., Linderman, J., Courville, A.B., Brychta, R.J., Dieckmann, W., Werner, C.D., Chen, K.Y., Celi, F.S., (2014). Temperature-acclimated brown adipose tissue modulates insulin sensitivity in humans. *Diabetes*. 63, 3686–98.
- Lidell, M.E., Betz, M.J., Leinhard, O.D., Heglind, M., Elander, L., Slawik, M., Mussack, T., Nilsson, D., Romu, T., Nuutila, P. (2013). Evidence for two types of brown adipose tissue in humans. *Nature Medicine* 19, 631–634.
- Liu, M., Weiss, M.A., Arunagiri, A., Yong, J., Rege, N., Sun, J., Haataja, L., Kaufman, R.J., Arvan, P. (2018). Biosynthesis, structure, and folding of the insulin precursor protein. *Diabetes Obes. Metab.* Sep;20 Suppl 2(Suppl 2):28–50.
- Liu, X., Zheng, Z., Zhu, X., Meng, M., Li, L., Shen, Y., Chi, Q., Wang, D., Zhang, Z., Li, C., Li, Y., Xue, Y., Speakman, J.R., Jin, W. (2013). Brown adipose tissue transplantation improves whole-body energy metabolism. *Cell Res*. 23, 851–4.
- Ma, S.W., Foster, D.O. (1986). Uptake of glucose and release of fatty acids and glycerol by rat brown adipose tissue in vivo. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 64, 609–614.
- Marlatt, K.L., Ravussin, E. (2017). Brown Adipose Tissue: An Update on Recent Findings. *Curr. Obes. Rep.* 6, 389–396.
- Matsuda, M., DeFronzo, RA. (1999). Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*. Sep;22(9):1462-70.
- Matsushita, M., Yoneshiro, T., Aita, S., Kameya, T., Sugie, H., Saito, M. (2014). Impact of brown adipose tissue on body fatness and glucose metabolism in healthy humans. *Int.J.Obes. (Lond)*. Jun;38(6):812-7.
- Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher D.F., Turner, R.C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. Jul;28(7):412-9.
- Mihir, N. Nakrani., Robert H., Wineland., Fatima Anjum. (2023). Physiology, Glucose metabolism. *Statpearls*. Viitattu 13.11.2023.

- Mittelman, SD., Fu, YY., Rebrin, K., Steil, G., Bergman, RN. (1997). Indirect effect of insulin to suppress endogenous glucose production is dominant, even with hyperglucagonemia. *J. Clin. Invest.* Dec 15;100(12):3121-30.
- Morrison, S.F., Madden, C.J., and Tupone, D. (2012). Central control of brown adipose tissue thermogenesis. *Frontiers in Endocrinology* 3.
- Mustajoki, P. (2021). Metabolinen oireyhtymä (MBO). *Lääkärikirja duodecim*.
- Muzik, O., Mangner, T., Leonard, W., Kumar, A., Janisse, J., Granneman, J. (2013). 15O PET measurement of blood flow and oxygen consumption in cold-activated human brown fat. *J. Nucl. Med.* 54, 523–531.
- Nicholls, D.G. (2006). The physiological regulation of uncoupling proteins. *Biochim. Biophys. Acta.* 1757:459–466.
- Orava, J., Nuutila, P., Lidell, M.E., Oikonen, V., Noponen, T., Viljanen, T., Scheinin, M., Taittonen, M., Niemi, T., Enerbäck, S., Virtanen, K.A. (2011). Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin. *Cell Metab.* Aug 3;14(2):272–9.
- Orava, J., Nuutila, P., Noponen, T., Parkkola, R., Viljanen, T., Enerbäck, S., Rissanen, A., Pietiläinen, K.H., Virtanen, K.A. (2013). Blunted metabolic responses to cold and insulin stimulation in brown adipose tissue of obese humans. *Obesity (Silver Spring)*. Nov;21(11):2279-87.
- Osborn, O., Olefsky, JM. (2012). The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat. Med.* 18(3):363-74.
- Ouellet, V., Labbé, S.M., Blondin, D.P., Phoenix, S., Guérin, B., Haman, F., Turcotte, E.E., Richard, D., Carpentier, A.C. (2012). Brown adipose tissue oxidative metabolism contributes to energy expenditure during acute cold exposure in humans. *J. Clin. Invest.* Feb;122(2):545-52.
- Patlak, C.S., Blasberg, R.G. (1985). Graphical Evaluation of Blood-to-Brain Transfer Constants from Multiple-Time Uptake Data. Generalizations. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 5, 584–590.

- Rogers, N.H. (2015). Brown adipose tissue during puberty and with aging. *Ann. Med.* 47, 142–149.
- Saari, T.J., Raiko, J, U-Din, M., Niemi, T., Taittonen, M., Laine, J., Savisto, N., Haaparanta-Solin, M., Nuutila, P., Virtanen K.A. (2020). Basal and cold-induced fatty acid uptake of human brown adipose tissue is impaired in obesity. *Sci. Rep.* Sep 1;10(1):14373.
- Saito, M., Okamatsu-Ogura, Y., Matsushita, M., Watanabe, K., Yoneshiro, T., NioKobayashi, J., Iwanaga, T., Miyagawa, M., Kameya, T., Nakada, K., Kawai, Y., Tsujisaki, M. (2009). High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans: Effects of cold exposure and adiposity. *Diabetes*, 58, 1526–1531.
- Samuel, VT., Shulman, GI. (2012). Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell.* 148(5):852-71.
- Sanchez-Gurmaches, J., Guertin, D.A. (2014). Adipocytes arise from multiple lineages that are heterogeneously and dynamically distributed. *Nat. Commun.* Jun 19; 5:4099.
- Seale, P., Bjork, B., Yang, W., Kajimura, S., Chin, S., Kuang, S., Scimè, A., Devarakonda, S., Conroe, H.M., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Rudnicki, M.A., Beier, D.R., Spiegelman, B.M. (2008). PRDM16 controls a brown fat/skeletal muscle switch. *Nature.* Aug 21;454(7207):961-7.
- Schreiber, R., Diwoky, C., Schoiswohl, G., Feiler, U., Wongsiriroj, N., Abdellatif, M., Kolb, D., Hoeks, J., Kershaw, EE., Sedej, S., Schrauwen, P., Haemmerle, G., Zechner, R. (2017). Cold-Induced Thermogenesis Depends on ATGL-Mediated Lipolysis in Cardiac Muscle, but Not Brown Adipose Tissue. *Cell Metab.* Nov 7;26(5):753-763.e7.
- Shin, H., Ma, Y., Chanturiya, T., Cao, Q., Wang, Y., Kadegowda, AKG., Jackson, R., Rumore, D., Xue, B., Shi, H., Gavrilova, O., Yu, L. (2017). Lipolysis in Brown Adipocytes Is Not Essential for Cold-Induced Thermogenesis in Mice. *Cell Metab.* Nov 7;26(5):764-777.e5.
- Singh, S.P., Misra, B., Kar, S.K., Panigrahi, M.K., Misra, D., Bhuyan, P., Pattnaik, K., Meher, C., Agrawal, O., Rout, N., Swain, M. (2015). Nonalcoholic fatty liver disease



(NAFLD) without insulin resistance: Is it different? *Clin. Res. Hepatol. Gastroenterol.* Sep;39(4):482-8.

Sokoloff, L., Reivich, M., Kennedy, C., Des Rosiers, M.H., Patlak, C.S., Pettigrew, K.D., Sakurada, O., Shinohara, M. (1977). The [14C] deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J. Neurochem.* 28, 897–916.

Stanford, K.I., Middelbeek, R.J.W., Townsend, K.L., An, D., Nygaard, E.B., Hitchcox, K.M., Markan, K.R., Nakano, K., Hirshman, M.F., Tseng, Y.-H., Goodyear, L.J. (2013). Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. *J. Clin. Invest.* 123, 215–23.

Sun, K., Kusminski, CM., Luby-Phelps, K., Spurgin, SB., An, YA., Wang, QA., Holland, WL., Scherer, PE. (2014). Brown adipose tissue derived VEGF-A modulates cold tolerance and energy expenditure. *Mol. Metab.* Apr 5;3(4):474-83.

Søberg, S., Löfgren, J., Philipsen, F.E., Jensen, M., Hansen, A.E., Ahrens, E., Nystrup, K.B., Nielsen, R.D., Sølling, C., Wedell-Neergaard, A.S., Berntsen, M., Loft, A., Kjær, A., Gerhart-Hines, Z., Johannesen, H.H., Pedersen, B.K., Karstoft, K., Scheele, C. (2021). Altered brown fat thermoregulation and enhanced cold-induced thermogenesis in young, healthy, winter-swimming men. *Cell Rep. Med.* Oct 11;2(10):100408.

Townsend, K.L., Tseng, Y.H. (2014). Brown fat fuel utilization and thermogenesis. *Trends Endocrinol. Metab.* 25, 168–177.

Tunturi, S. (2021a) Glukoosikoe, oraalinen, lyhyt, eli ”sokerirasituskoe” (Pt-Gluk-R). *Duodecim terveyskirjasto.*

Tunturi, S. (2021b) Hemoglobiini-A1c verestä, (B- HbA<sub>1c</sub>) *Laboratoriotutkimusten tulkinta, Duodecim terveyskirjasto.*

Tunturi, S. (2021 c) Maksa-arvot (maksakokeet). *Laboratoriotutkimusten tulkinta, Duodecim terveyskirjasto.*

Turkington, T.G. (2001). Introduction to PET instrumentation. *J. Nucl. Med. Technol.* 29, 4–11.

U Din, M., Raiko, J., Saari, T., Kudomi, N., Tolvanen, T., Oikonen, V., Teuho, J., Sipilä, H., Savisto, N., Parkkola, R., Nuutila, P., Virtanen, K. (2016). Human brown adipose

tissue [15O] O<sub>2</sub> PET imaging in the presence and absence of cold stimulus. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 43, 1878–1886.

U Din, M., Raiko, J., Saari, T., Saunavaara, V., Kudomi, N., Solin, O., Parkkola, R., Nuutila, P., Virtanen, K.A. (2017). Human Brown Fat Radiodensity Indicates Underlying Tissue Composition and Systemic Metabolic Health. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* Jul 1;102(7):2258-2267.

van der Lans, A.A., Hoeks J., Brans, B., Vijgen, G.H., Visser, M.G., Vosselman, M.J., Hansen, J., Jörgensen, J.A., Wu, J., Mottaghy, F.M., Schrauwen, P., van Marken Lichtenbelt, W.D. (2013). Cold acclimation recruits human brown fat and increases nonshivering thermogenesis. *J. Clin. Invest.* Aug;123(8):3395-403.

Van Marken Lichtenbelt, W.D., Vanhomerig, J., Smulders, N., Drossaerts, J.M.A.F.L., Kemerink, G., Bouvy, N., Schrauwen, P., Teule, G.J.J. (2009). Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *N. Engl. J. Med.* 360, 1500–1508.

Van Tulleken, C., Tipton, M., Massey, H., Harper, C.M. (2018). Open water swimming as a treatment for major depressive disorder. *BMJ Case Rep.*

Vijgen, GH., Bouvy, ND., Teule, GJ., Brans, B., Hoeks, J., Schrauwen, P., van Marken Lichtenbelt, WD. (2012). Increase in brown adipose tissue activity after weight loss in morbidly obese subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* Jul;97(7): E1229-33.

Villarroya, F., Cereijo, R., Villarroya, J., Giralt, M. (2017). Brown adipose tissue as a secretory organ. *Nat. Rev. Endocrinol.* Jan;13(1):26-35.

Virtanen, K.A., Lidell, M.E., Orava, J., Heglind, M., Westergren, R., Niemi, T., Taittonen, M., Laine, J., Savisto, N.-J., Enerback, S., Nuutila, P. (2009). Functional Brown Adipose Tissue in Healthy Adults. *N. Engl. J. Med.* 360, 1518–1525.

Virtanen, K.A., Nuutila, P. (2015). Ihmisen ruskea rasvakudos. *Lääketieteellinen aikakausikirja Duodecim.* 131(22):2075–82.

Wang, Q., Zhang, M., Xu, M., Gu, W., Xi, Y., Qi, L., Li, B., Wang, W. (2015). Brown adipose tissue activation is inversely related to central obesity and metabolic parameters in adult human. *PLoS One* 10, e0123795.

Weyer, C., Bogardus, C., Mott, DM., Pratley, RE. (1999). The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* Sep;104(6):787-94.

World Health Organisation (2016). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Viitattu 10.12.2023.

Wu, J., Bostrom, P., Sparks, L.M., Ye, L., Choi, J.H., Giang, A.-H., Khandekar, M., Virtanen, K.A., Nuutila, P., Schaart, G., Huang, K., Tu, H., Lichtenbelt, W.D. van M., Hoeks, J., Enerbaeck, S., Schrauwen, P., Spiegelman, B.M. (2012). Beige Adipocytes Are a Distinct Type of Thermogenic Fat Cell in Mouse and Human. *Cell.* 150, 366–376.

Yoneshiro, T., Aita, S., Matsushita, M., Ogura, Y.O., Kameya, T., Kawai, Y., Miyagawa, M., Tsujisaki, M., Saito, M. (2011). Age-related decrease in cold-activated brown adipose tissue and accumulation of body fat in healthy humans. *Obesity.* 19, 1755–1760.

Xue, B., Rim, J.-S., Hogan, J.C., Coulter, A.A., Koza, R.A., and Kozak, L.P. (2007). Genetic variability affects the development of brown adipocytes in white fat but not in interscapular brown fats. *Journal of Lipid Research.* 48, 41–51.

Xue, Y., Petrovic, N., Cao, R., Larsson, O., Lim, S, Chen, S., Feldmann, HM., Liang, Z., Zhu, Z., Nedergaard, J., Cannon, B., Cao, Y. (2009). Hypoxia-independent angiogenesis in adipose tissues during cold acclimation. *Cell. Metab.* Jan 7;9(1):99-109.

Zhang, Q., Ye, H., Miao, Q., Zhang, Z., Wang, Y., Zhu, X., Zhang, S., Zuo, C., Zhang, Z., Huang, Z., Xue, R., Zeng, M., Huang, H., Jin, W., Tang, Q., Guan, Y., Li, Y. (2013). Differences in the metabolic status of healthy adults with and without active brown adipose tissue. *Wien Klin. Wochenschr.* Nov;125(21-22):687-95.