

Aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin  
(Direktor Univ.-Prof. Dr.med. M. Nauck)  
der Universitätsmedizin der Universität Greifswald

**Beziehung zwischen zirkulierendem Irisin und  
kardiopulmonaler Leistungsfähigkeit bei  
gesunden Probanden:  
Ergebnisse der Study of Health in Pomerania**

Inaugural- Dissertation  
zur  
Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin  
(Dr. med.)

der  
Universitätsmedizin  
der  
Universität  
Greifswald  
2019

vorgelegt von Nils Kerstholt  
geb. am 06.10.1990  
in Arnsberg

Dekan: Prof. Dr. C.-D. Heidecke

1. Gutachter: Prof. Dr. M. Dörr
2. Gutachter: Prof. Dr. R. Ewert

Ort, Raum: Greifswald, O.0.88

Tag der Disputation: 25.11.19

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>3</b>
<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>4</b>
1.1. IRISIN .....	4
1.2. DER ZUSAMMENHANG ZWISCHEN IRISIN UND KÖRPERLICHER AKTIVITÄT .....	6
1.3. FRAGESTELLUNG .....	8
<b>2. MATERIALIEN UND METHODEN</b> .....	<b>9</b>
2.1. STUDIENPOPULATION .....	9
2.2. DATENERHEBUNG UND LABORMETHODEN .....	10
2.3. BELASTUNGSTESTS UND GASAUSTAUSCHVARIABLEN .....	10
2.4. STATISTISCHE ANALYSE .....	12
<b>3. ERGEBNISSE</b> .....	<b>14</b>
<b>4. DISKUSSION</b> .....	<b>20</b>
4.1. VERGLEICH MIT BISHERIGEN STUDIENERGEBNISSEN BEZÜGLICH DER ASSOZIATION ZWISCHEN IRISIN UND MUSKELARBEIT .....	20
4.2. GESCHLECHTSSPEZIFISCHE UNTERSCHIEDE IN DEN BETRACHTETEN ASSOZIATIONEN .....	21
4.3. SAISONALE SCHWANKUNG VON IRISIN .....	22
4.4. STÄRKEN DER STUDIE .....	23
4.5. LIMITATIONEN DER STUDIE .....	24
4.6. SCHLUSSFOLGERUNGEN .....	25
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>27</b>
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>28</b>
<b>7. ANHANG</b> .....	<b>36</b>
7.1. WISSENSCHAFTLICHE ARBEIT .....	36
7.2. KURZFASSUNG .....	48

## Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	Analysis of variance (Varianzanalyse)
ATC	Anatomical Therapeutic Chemical Classification (Anatomisch-Therapeutisch-Chemisches Klassifikationssystem)
BMI	Body-Mass-Index
CI	Confidence interval (Konfidenzintervall)
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease (Chronisch obstruktive Pneumopathie)
CPET	Cardiopulmonary exercise testing (Herz- Kreislauf- Test)
EKG	Elektrokardiographie
ELISA	Enzyme linked Immunosorbent Assay
FEV1	Forced expiratory volume in 1 second (Forciertes Atemvolumen beim Ausatmen in einer Sekunde)
FNDC5	Fibronectin type III domain-containing protein 5 (Fibronectin Typ III enthaltendes Protein 5)
FVC	Forced vital capacity (Forcierte Vitalkapazität)
MRT	Magnetresonanztomographie
NRS	Non-randomised controlled study (Nicht randomisierte kontrollierte Studie)
VO <sub>2</sub> , peak	Peak oxygen uptake (Spitzen Sauerstoffaufnahme)
PGC1- $\alpha$	Peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$ co-activator-1 $\alpha$
RCT	Randomised controlled trial (Randomisierte kontrollierte Studie)
SHIP-TREND	Study of Health in Pomerania-Trend
UCP-1	Uncoupling protein 1 (Entkoppelndes Protein 1)
VO <sub>2@AT</sub>	Oxygen uptake at anaerobic threshold (Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Grenze)
WC	Waist circumference (Taillenumfang)
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation)



# 1. Einleitung

Im Jahr 2012 veröffentlichte die Zeitschrift „Nature“ einen Artikel der Zellbiologen Boström, Spiegelman und Kollegen, die Ursachen für die positiven Effekte von sportlicher Aktivität auf den Stoffwechsel untersuchten <sup>1</sup>. Dabei konzentrierten sie sich auf eine Substanz namens PGC1- $\alpha$  (engl.: peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  co-activator-1 $\alpha$ ). PGC1- $\alpha$  wird nach sportlicher Aktivität vermehrt im Muskelgewebe gebildet und scheint für verschiedene positive Auswirkungen sportlicher Aktivität auf die Gesundheit verantwortlich zu sein. Interessanterweise zeigen transgene Mäuse mit gesteigerter PGC1- $\alpha$  Produktion im gleichen Maße eine Resistenz gegenüber Adipositas und Diabetes wie Mäuse, die zum Sport angetrieben wurden <sup>1</sup>. Boström et al. <sup>1</sup> stellten darüber hinaus fest, dass die transgenen Mäuse neben einem verminderten Adipositasrisiko auch eine höhere Lebenserwartung aufwiesen und schlussfolgerten, dass PGC1- $\alpha$  die Muskulatur zur Ausschüttung von Botenstoffen anregt.

Innerhalb der letzten Dekade ist der Muskel immer mehr in den Fokus der medizinischen Forschung gerückt und gilt mittlerweile als endokrines Organ, das Botenstoffe, sogenannte Zytokine, ausschüttet. Die spezifisch vom Muskelgewebe exprimierten und sezernierten Zytokine werden laut Pedersen et al. <sup>2,3</sup> als Myokine bezeichnet. Sie werden bei körperlicher Aktivität ausgeschüttet und erfüllen entweder endokrin, parakrin oder autokrin ihre Funktion im menschlichen Körper <sup>4</sup>. Myokine spielen eine entscheidende Rolle bei der Regulation im endokrinen System, im Nerven- als auch Immunsystem <sup>5,6</sup>. Diese Regulation mittels Myokinen hat weitreichende Auswirkungen auf diverse Organe und Gewebe, wie zum Beispiel das Fettgewebe, die Leber, das Pankreas, den Knochen, das Gehirn und den Muskel selbst <sup>4,7-12</sup>.

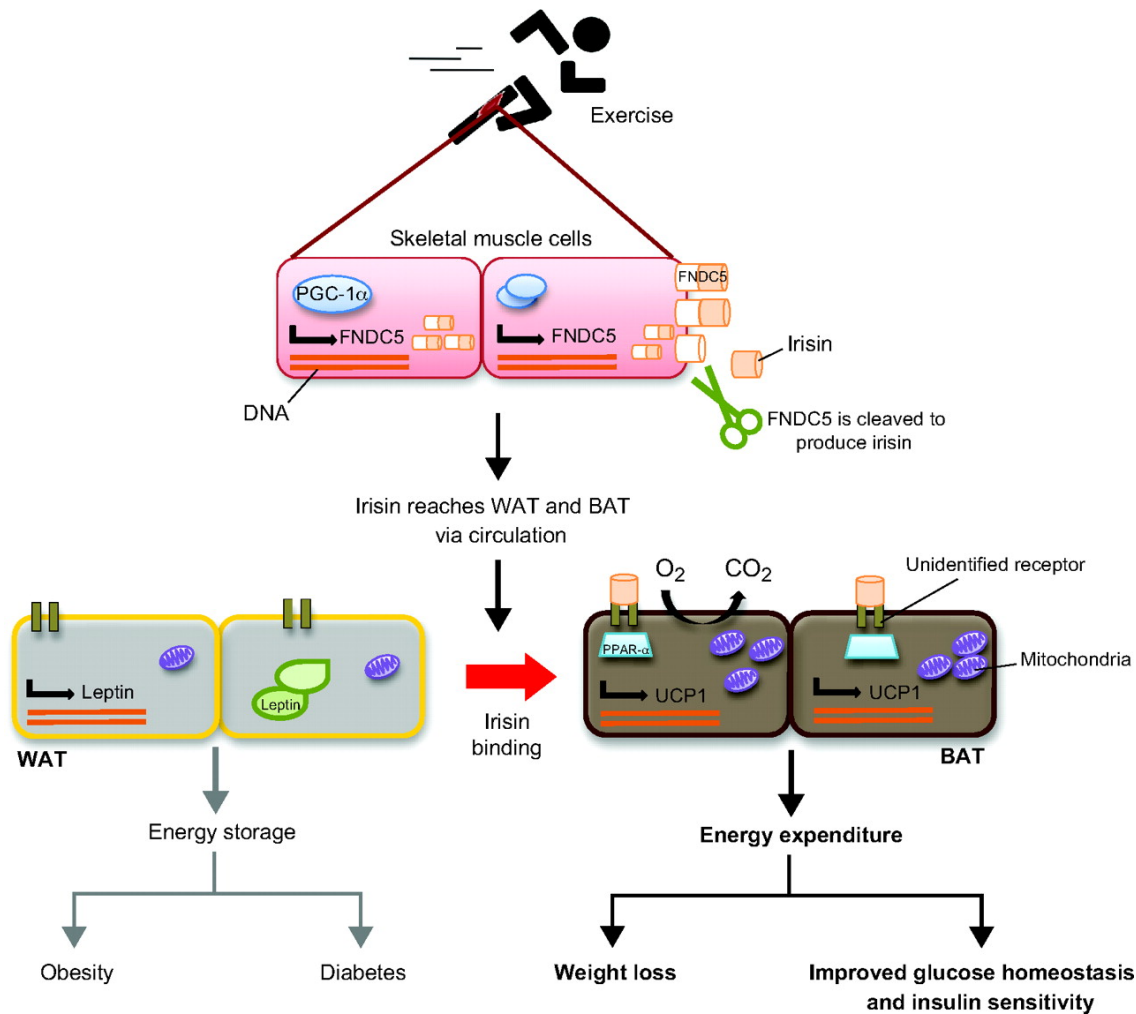
## 1.1. Irisin

Das Myokin Irisin wurde erstmals von den oben genannten Forschern Boström, Spiegelman und Kollegen untersucht und beschrieben <sup>1</sup>. Irisin entsteht durch Abspaltung und darauffolgender Sezernierung aus FNDC5 (fibronectin type III domain-containing protein 5), dem für Irisin kodierenden Gen (Abbildung 1). Das FNDC5 Gen wird unter PGC1- $\alpha$  Einfluss vermehrt exprimiert. PGC1- $\alpha$  bildet somit den Startpunkt der

Irisinkaskade. Bis zu dieser Entdeckung war PGC1- $\alpha$  bereits als ein transkriptionaler Koaktivator bekannt, der am energieabhängigen Stoffwechsel beteiligt ist.

Im Jahre 2013 wurde erstmalig eine positive Beziehung zwischen kombiniertem Kraft- und Ausdauertraining und Irisin direkt nach Muskelarbeit bei 26 Diabetikern und Nicht-Diabetikern im Alter von 40-65 Jahren gefunden<sup>13</sup>. Besondere Aufmerksamkeit erlangte Irisin aber durch seinen Einfluss auf das Fettgewebe. Generell werden zwei Arten von Fettgewebe unterschieden: das weiße Fettgewebe, das sogenannte Speicherfett, und das braune Fettgewebe, das mittels eines UCP Signalwegs als Gewebe der Thermogenese und des Energieumsatzes tätig ist<sup>14</sup>. Nachdem das Fettgewebe jahrelang als reiner Energiespeicher gesehen wurde, hat sich diese Ansicht durch die Entdeckung verschiedener Einflussfaktoren auf das Fettgewebe, unter anderem Myokine, die eine Wärmeerzeugung und damit einen Einfluss auf den Energieumsatz mit sich bringen, geändert. Obwohl die genauen Mechanismen noch ungeklärt sind, konnte nachgewiesen werden, dass Irisin einen Einfluss auf die Fettvorläuferzellen und die beigen/brite (brown-in-white) Fettzellen hat, und einen sogenannten „browning effect“ bewirkt. Dieser Vorgang beinhaltet die Synthese von UCP-1 (uncoupling protein 1) und die damit verbundene Umwandlung von Energie in Wärme und ist charakteristisch für das braune Fettgewebe. Da er in diesem Fall durch Irisin vermittelt im weißen Fettgewebe auftritt, wird dem „browning effect“ die Umwandlung des weißen in braunes Fettgewebe zugeschrieben. Zusätzlich scheint er zu erhöhtem Sauerstoffverbrauch und verstärkter Energiebereitstellung zu führen<sup>15-17</sup>.

Diese durch Irisin hervorgerufene, experimentell belegte Umwandlung von energiespeichernden weißen Fettzellen in energieverbrauchende braune Fettzellen wäre ein potentieller Ansatz, um metabolische Veränderungen und Erkrankungen wie Adipositas und Diabetes mellitus, zwei weit verbreitete Krankheitsleiden in industrialisierten Ländern<sup>18-26</sup>, zu bekämpfen. In Folge dessen entfachte ein förmlicher Boom rund um das Muskelprotein und seine Ausschüttung bei Muskelarbeit, so dass Irisin als „Sport“- oder „Fitness-Hormon“ propagiert wurde<sup>1</sup>.



**Abbildung 1:** Entstehung und Auswirkung von Irisin auf das Fettgewebe nach Castillo-Quan <sup>27</sup>. Diese Abbildung wurde unter der Creative Commons Lizenz (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/deed.de>) reproduziert und nicht verändert.

Die bereits erwähnte Entstehungskaskade als auch die funktionelle Auswirkung von Irisin in Bezug auf die Umwandlung von weißem in braunes Fettgewebe wird durch die obenstehende Abbildung (Abbildung 1) von Castillo-Quan et al. <sup>27</sup> in sehr anschaulicher und kompakter Art und Weise dargestellt und zusammengefasst.

## 1.2. Der Zusammenhang zwischen Irisin und körperlicher Aktivität

Seit der Entdeckung von Irisin wurden zahlreiche Studien, die sich mit der Beziehung zwischen Irisin und Muskelarbeit befassen, publiziert. Die berichteten Ergebnisse sind jedoch sehr widersprüchlich. So entdeckten Norheim et al. <sup>13</sup> im Jahre 2013 erstmals

eine positive kurzzeitige Beziehung von Muskelarbeit zu Irisin in menschlichen Muskelzellen direkt nach Belastung. Die Studie zeigte einen Anstieg von mRNA für PGC1- $\alpha$  und FNDC5 nach 12-monatigem Training, sowohl in der Kontroll- als auch in der Prädiabetes-Patientengruppe. Direkt nach der Belastung konnte ebenfalls ein Anstieg der Irisin-Konzentration erfasst werden. Nach langzeitiger Belastung, in diesem Fall nach 12-monatigem Training, waren die Irisin-Konzentrationen jedoch eher reduziert [13], statt wie im Tiermodell erhöht <sup>1</sup>.

Ein ähnlicher Trend zeigte sich bei zwölf Patienten, die Laufbandtraining ausgesetzt waren <sup>28</sup>. So wurde arbeitsabhängig ein zeitlicher Anstieg der Irisin-Spiegel während der ersten Stunde der Belastung ermittelt, wohingegen nach 90-minütiger Belastung der Irisin-Spiegel nahezu auf den Ausgangswert zurücksank.

Weitere Studien der letzten Jahre <sup>29-34</sup>, die sich ebenfalls mit dem Zusammenhang zwischen Irisin und Muskelarbeit beschäftigten, bestätigten den nur akuten Anstieg des Irisin-Spiegels nach Muskelarbeit. Drei dieser Studien <sup>30-32</sup>, wiesen sogar einen Abfall des Irisin-Spiegels direkt nach dem kurzzeitigen Anstieg auf. Ergebnisse, die gegen eine Beziehung zwischen Irisin und Muskelarbeit sprechen, wurden zuerst von Hecksteden et al. <sup>35</sup> aufgezeigt. Basierend auf einer Untersuchung bei 102 Teilnehmern im Alter von 30-60 Jahren, die sauerstoffabhängigem Ausdauer- bzw. Krafttraining ausgesetzt waren, wurden keine signifikanten Unterschiede der Irisin-Spiegel der Trainingsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe gefunden. Weitere Untersuchungen konnten ebenfalls keinen belastungsabhängigen Anstieg des Irisin-Spiegels bestätigen <sup>36-44</sup>.

Die teils widersprüchlichen Ergebnisse wurden bereits von Hofman et al. <sup>20</sup> und Novelle et al. <sup>22</sup> folgendermaßen zusammengefasst: „Die Regulierung von Irisin durch verschiedene Arten von Belastung sind teilweise widersprüchlich und Effekte zeigten sich bis jetzt nur in hochselektierten Patientenpopulationen“ <sup>20</sup> und daher „ist es immer noch notwendig die Nachforschungen in einigen Aspekten weiter zu vertiefen, um das volle Potential als bedeutungsvoller Wirkstoff in menschlichen Krankheitsstadien zu klären“ <sup>22</sup>. Zu dem Aspekt der hochselektiven Patientenpopulationen wären außerdem noch die eher geringen Fallzahlen und die gemeinsame Betrachtung von Männern und Frauen hinzuzufügen, welche als weitere Limitationen der bisherigen Studien zu sehen sind.

Um die Aussagekraft dieser bisher eher kleinen hochselektiven Studien weiter zu stärken, ist die vorliegende Publikation als ein weiterer Schritt in der Erforschung des Zusammenhangs zwischen Irisin und Muskelarbeit zu sehen.

### **1.3. Fragestellung**

Das Ziel der vorgelegten Arbeit ist es, die Beziehung zwischen Irisin-Serumkonzentrationen und der Belastungskapazität in der Allgemeinbevölkerung anhand der Study of Health in Pomerania (SHIP)-TREND Kohorte zu analysieren. Diese Analyse erlaubt es, Aussagen für die Hintergrundsbevölkerung im Vergleich zu den in früheren Studien oft selektierten kleinen teils diabetischen oder adipösen Studienpopulationen zu treffen. Darüber hinaus werden geschlechtsspezifische Unterschiede von arbeitsabhängigen Irisin-Spiegeln untersucht.

## 2. Materialien und Methoden

### 2.1. Studienpopulation

SHIP-TREND ist eine populationsbasierte Studie im Nordosten Deutschlands in den Städten Greifswald, Stralsund, Anklam und 29 umliegenden Bezirken <sup>45</sup>.

Zur Datenerfassung wurde eine repräsentative Gruppe von 8016 Erwachsenen im Alter von 20 bis 79 Jahren zufällig aus den Einwohnermelderegistern ausgewählt. Insgesamt nahmen von diesen potentiellen Probanden 4420 Teilnehmer an der Basisuntersuchung von SHIP-TREND zwischen September 2008 und September 2012 teil. Die Studie folgte den Empfehlungen der Deklaration von Helsinki und wurde durch das Ethikkomitee der Universität Greifswald genehmigt.

Eine Subpopulation von 1000 SHIP-Trend Teilnehmern erhielt Irisin- Messungen. Von diesen wurden 260 Teilnehmer aufgrund von mindestens einer der folgenden Bedingungen ausgeschlossen:

- keine Teilnahme an Kardiopulmonalen Belastungstests (CPET),
- Belastungstests wurden später als 100 Tage nach der Grunduntersuchung durchgeführt,
- eine geschätzte glomeruläre Filtrationsrate von  $<30\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ , das Vorhandensein eines Schrittmachers sowie einer Aorten- oder Mitralklappenstenose,
- Einnahme von Digitalisglykosiden [anatomisch-therapeutisch-chemischer (ATC) Code CO1AA] oder selektiven Kalziumkanalblockern mit direkten kardialen Effekten (ATC Code CO8D) sowie
- fehlende Werte von Störfaktoren.

Die finale Studienpopulation umfasste daher 740 Probanden (334 Männer, 406 Frauen).

## **2.2. Datenerhebung und Labormethoden**

Informationen bezüglich des Alters, Geschlechts, Rauchstatus, körperlicher Aktivität und weiteren soziodemografischen Charakteristika sowie der medizinischen Anamnese wurden mittels eines computergestützten Interviews erfasst. Die Probanden wurden als sportlich Aktive klassifiziert, wenn sie von mindestens einer Stunde körperlicher Aktivität pro Woche im Winter und Sommer berichteten.

Der Taillenumfang (waist circumference, WC) wurde bis zum nächsten 0,1 cm mit einem unelastischen Band in der Mitte zwischen dem untersten Rippenbogenrand und dem höchsten Punkt des iliakalen Knochens in der horizontalen Ebene in einer Position gemessen, in der der Proband angenehm steht und dabei sein Gewicht gleichmäßig auf beide Füße verteilt. Diese Messungen wurden in Übereinstimmung mit den Standards der WHO (World Health Organization) durchgeführt.

Nüchternblutproben wurden aus der Ellenbeugenvene in Rückenlage entnommen und sofort analysiert oder bei -80°C gelagert. Die Bestimmung der Irisin- Konzentration erfolgte mittels eines Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Adipogen AG, Liestal, Switzerland) mit einem Detektionslimit von 0,001 µg/ml. Während des Verlaufs der Studie betrug der Variationskoeffizient 11,57%.

## **2.3. Belastungstests und Gasaustauschvariablen**

Ein durch Symptome limitierter Belastungstest unter Gebrauch eines geeichten elektromagnetisch gebremsten Fahrradergometers mit elektrischer Höhenverstellbarkeit (Ergoselect 100, Ergoline, Germany) wurde passend zu einem modifizierten Jones Protokoll (stufenweises Erhöhen der physischen Belastung von 16 Watt/ Minute, angefangen mit einem ungebremsten Fahrradfahren plus der Ergometer abhängigen permanenten Belastung) <sup>46</sup> durchgeführt. Der Gasaustausch und die Ventilationsvariablen wurden von Atemzug zu Atemzug über 10 Sekunden-Intervalle gemittelt mit Hilfe eines Computer-basierten Systems gemessen. Weiterführende Details sind andernorts aufgeführt <sup>47</sup>. Unter Ausschluss von Brustschmerz und EKG-Abnormitäten wurden alle Tests solange fortgeführt, bis Symptome (gewollte Belastung, Dyspnoe oder Ermüdung) auftraten. Vor dem Test wurden die Patienten ermutigt, die maximale Ausschöpfung zu erreichen, wohingegen

während der Belastung keine weiteren motivierenden Mittel benutzt wurden. Alle Tests wurden übereinstimmend mit den aktuellen Leitlinien für Belastungstests unter Raumtemperatur, mit EKG, Blutdruck und Sauerstoffsättigung-Überwachung durchgeführt <sup>48,49</sup>.

Die maximale Sauerstoffaufnahme ( $VO_{2,peak}$ ) wurde als der höchste über zehn Sekunden gemittelte Durchschnitt von  $VO_2$  in der letzten Minute der Belastung bzw. den ersten Sekunden der Erholungsphase definiert. Die Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle ( $VO_{2@AT}$ ) wurde gemäß Wasserman et al. <sup>50</sup> festgelegt. Die Ermittlung der anaeroben Schwelle basierte auf drei Methoden:

- nicht-invasive Ermittlung durch Gasaustauschanalyse, indem man das Verhältnis von  $VO_2$  zu  $VCO_2$  (V-Neigungsmethode) ermittelt,
- endtidale Gaskonzentration pro Zeit und
- atembegogene Äquivalente für Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid pro Zeiteinheit <sup>51</sup>.

Mindestens zwei der drei Methoden mussten konform sein. Die maximale Ausgangsleistung war gekennzeichnet als die höchste erreichte und für mindestens zehn Sekunden beibehaltene Leistung in Watt auf dem Fahrradergometer (W) während der Belastung.

Alle ermittelten Parameter haben sich als solide reproduzierbar herausgestellt <sup>51</sup>. Die Belastungsdauer wurde als Zeit vom Start der Belastung (ohne Erholungsphase) bis zur Beendigung ermittelt.

In der vorliegenden Studie wurde die CPET bis zu 100 Tagen nach der Grunduntersuchung (Abnahme der Blutproben) erbracht. Der durchschnittlich verstrichene Zeitraum umfasste 28 Tage (25. Perzentil: 9 Tage; 75. Perzentil: 48 Tage). Um auszuschließen, dass die Dauer zwischen Grunduntersuchung und CPET die Analyseergebnisse beeinflusst, wurden alle Analysen in einer Subgruppe von 402 Probanden mit einer maximalen Verzögerungszeit von einem Monat wiederholt [Median 11Tage (25.Perzentil: 3Tage; 75.Perzentil: 21 Tage)].



## 2.4. Statistische Analyse

Kontinuierliche Daten wurden als Median (25. Perzentil; 75. Perzentil), nominale Daten als Prozent berichtet. Für bivariate Analysen zum Vergleich von Männern und Frauen sowie von Teilnehmern und Nicht-Teilnehmern und zum Test auf statistische Signifikanz der jahreszeitlichen Schwankungen im Irisinspiegel wurde der Kruskal-Wallis Test (kontinuierliche Daten) oder der  $\chi^2$ -Test (nominale Daten) angewandt. Mittels Varianzanalyse (ANOVA: engl. analysis of variance) wurden adjustierte Mittelwerte für CPET Parameter in Abhängigkeit von Irisin-Spiegeln (Kategorisierung gemäß geschlechts- und monatspezifischen Tertilen) berechnet. Geschlechtsspezifische multivariable lineare Regressionsmodelle wurden berechnet, um die Assoziation zwischen Irisin, als eine kontinuierliche Variable, und CPET Parametern abzuschätzen. Um mögliche nichtlineare Beziehungen zu detektieren, wurden Modelle mit Restricted Cubic Splines mit 3 Knoten (5., 50. und 95. Perzentil nach Stone und Koo <sup>52</sup>) mittels Likelihood-Ratio-Tests mit den linearen Modellen verglichen. In der vorliegenden Studienpopulation konnten keine nichtlinearen Zusammenhänge gefunden werden. Alle Modelle wurden für Alter, BMI, Rauchstatus sowie Zeit zwischen der Grund- und CPET-Untersuchung adjustiert. Zusätzlich wurden Glukose und Gesamtcholesterin als weitere Störfaktoren getestet. Sensitivitätsanalysen wurden nach dem Ausschluss von

- 1) allen Probanden mit einer Zeitverzögerung zwischen der Blutentnahme und CPET von mehr als einem Monat oder
- 2) allen Probanden mit chronisch obstruktiver pulmonaler Erkrankung (COPD) definiert als Einsekundenkapazität (FEV1) /funktionelle Vitalkapazität (FVC) kleiner als 0,7 oder Einnahme von Medikamenten gegen obstruktive Atemwegserkrankungen (ATC Code RO3), durchgeführt.

Ein p-Wert < 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen. Alle statistischen Analysen wurden mit SAS 9.3 (SAS Institut Inc., Cary, NC, USA) durchgeführt.

Alle der vorliegenden Studie zugrunde liegenden Daten aus SHIP-Trend wurden federführend von der Abteilung SHIP-KEF (Institut für Community Medicine, Universitätsmedizin Greifswald) erhoben. Die gesammelten Daten werden vom Forschungsverbund Community Medicine (<http://www2.medizin.uni-greifswald.de/cm/>)

fv/forschungsverbund/) verwaltet und können von internen sowie externen Wissenschaftlern beantragt werden. Der Promovend hat gemeinsam mit den Verantwortlichen am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin das Thema für die vorliegende Arbeit entwickelt und einen positiv begutachteten Datennutzungsantrag beim Forschungsverbund gestellt. Nach Ausarbeitung eines Analyseplans durch den Promovenden erfolgten die statistischen Analysen am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin. Die Ausarbeitung und Evaluation der Ergebnisse als auch die Einordnung in den aktuellen Stand der Literatur sowie die Diskussion der Ergebnisse wurden vom Promovenden in Rücksprache mit der Betreuerin am Institut durchgeführt, worauf basierend von ihm diese Arbeit verfasst wurde.

### 3. Ergebnisse

Männer und Frauen in der Studienpopulation wurden hinsichtlich allgemeiner Eigenschaften verglichen (Tabelle 1). Frauen waren gegenüber Männern häufiger Nichtraucher und hatten einen niedrigeren Taillenumfang sowie einen niedrigeren BMI. Außerdem waren Frauen verglichen mit Männern weniger häufig von Bluthochdruck betroffen und hatten niedrigere Glukosespiegel, stattdessen aber ein höheres Gesamtcholesterin. Im Hinblick auf die CPET- Parameter wiesen Männer eine höhere maximale Sauerstoffaufnahme ( $VO_{2,peak}$ ), Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle ( $VO_{2@AT}$ ), Sauerstoff-Puls (oxygen pulse) und eine höhere maximale Leistung auf.

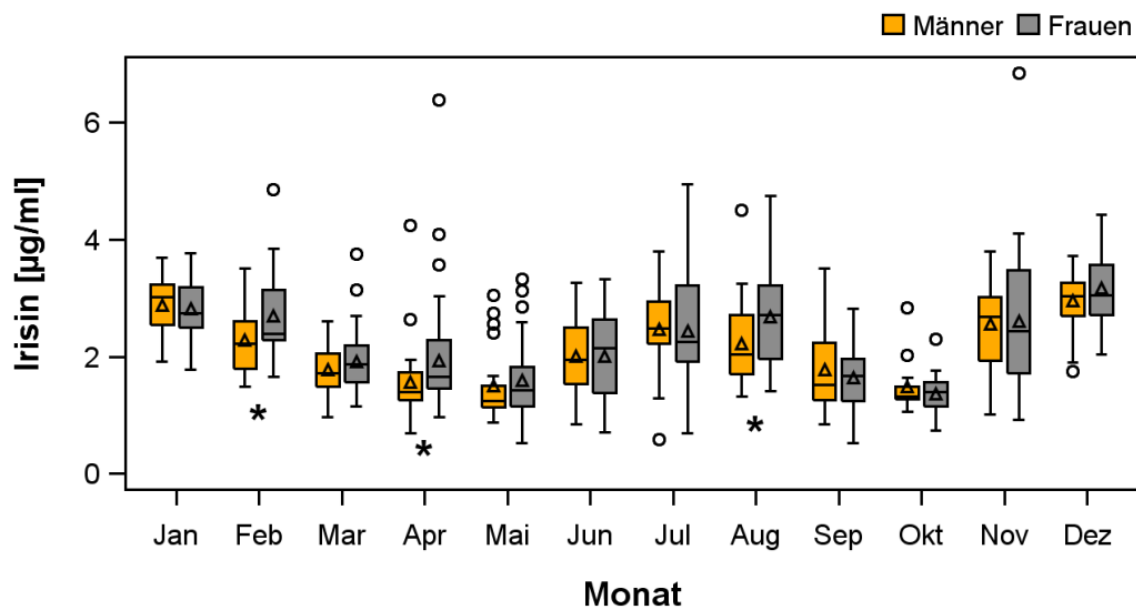
**Tabelle 1:** Charakteristika der Männer und Frauen in der Studienpopulation

Charakteristika	Männer (n = 334)	Frauen (n = 406)	P
Alter (Jahre)*	50 (39; 61)	52 (41; 61)	0,54
Rauchstatus (%)			<0,01
Nichtraucher	32,0	51,0	
Ex-Raucher	48,5	29,1	
Gegenwärtige Raucher	19,5	19,9	
Körperliche Aktivität (%)	73,9	75,8	0,55
Taillenumfang (cm)	94,0 (86,5; 102,5)	81,1 (74,0; 90,0)	<0,01
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,8 (25,0; 30,3)	26,1 (23,2; 29,5)	<0,01
Glukose (mmol/l)	5,4 (5,1; 5,9)	5,2 (4,9; 5,6)	<0,01
Gesamtcholesterin (mmol/l)	5,3 (4,6; 6,1)	5,5 (4,9; 6,2)	0,02
Bluthochdruck (%)	43,1	35,1	0,03
Irisin (µg/ml)	1,97 (1,47; 2,70)	2,01 (1,48; 2,71)	0,69
$VO_{2,peak}$ (ml/min)	2600 (2183; 3000)	1611 (1400; 1925)	<0,01
$VO_{2@AT}$ (ml/min)	1200 (1000; 1400)	850 (800; 1000)	<0,01
Sauerstoff-Puls (ml)	16,1 (14,4; 18,1)	10,9 (9,3; 12,2)	<0,01
Maximale Leistung (watt)	196 (180; 228)	132 (116; 148)	<0,01

$VO_{2,peak}$  = höchster 10 Sekunden Durchschnitt der Sauerstoffaufnahme ( $VO_2$  in der letzten Minute der Arbeit);  $VO_{2@AT}$  =  $VO_2$  an der anaeroben Schwelle. Kontinuierliche Daten werden als Median dargestellt (25<sup>te</sup> und 75<sup>te</sup> Perzentile); Nominale Daten werden als Prozent angegeben.  $\chi^2$ -test (Nominale Daten) oder Kruskal-Wallis Test (Intervall Daten) wurden benutzt, um die Männer mit den Frauen zu vergleichen. \*Alter bei der Grunduntersuchung

Studienteilnehmer mit CPET waren im Vergleich zu denjenigen ohne CPET häufiger Frauen, Nichtraucher und sportlich aktiv, hatten einen niedrigeren BMI und niedrigere Blutzuckerspiegel und weniger häufig eine arterielle Hypertonie (siehe Tabelle 1 im Manuskript, Anhang 7.1, S. 37).

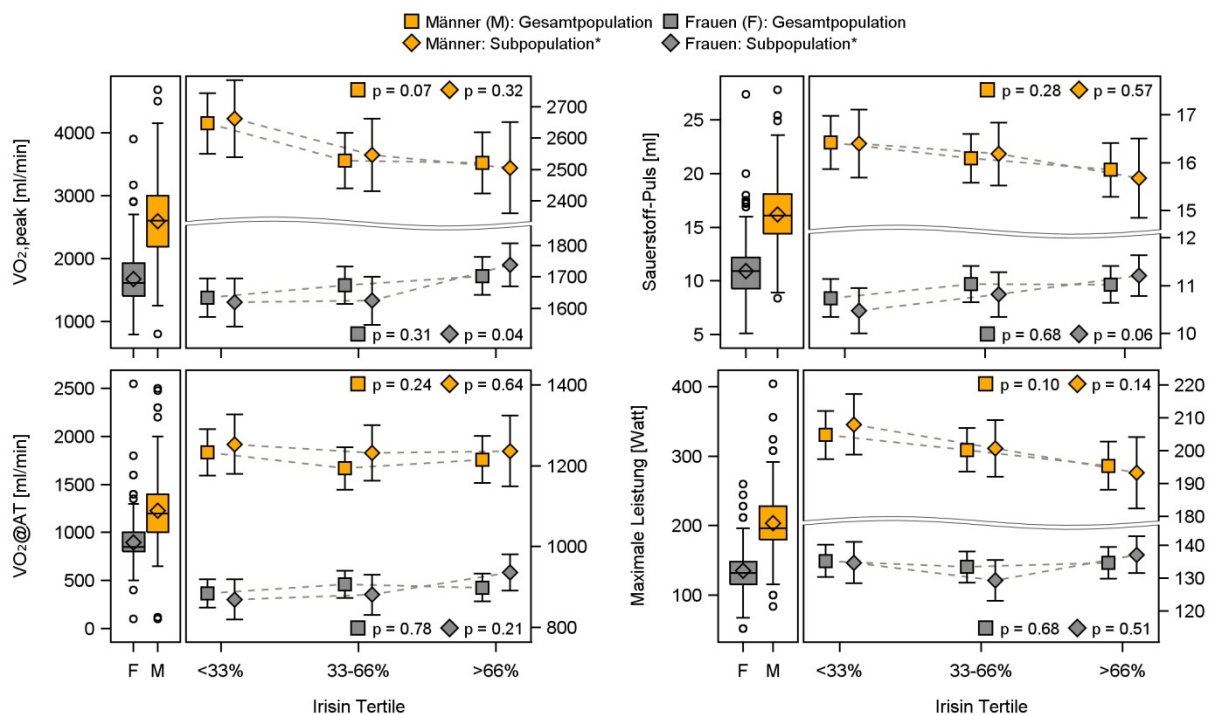
Bezüglich des Irisins stellten sich keine Geschlechtsunterschiede heraus (Tabelle 1). Allerdings zeigten unsere Daten eine starke Saisonalität. Wie in Abbildung 2 dargestellt, treten in den Wintermonaten Dezember bis Februar sowie in den Sommermonaten Juli bis August höhere Irisin-Spiegel im Vergleich zu den restlichen Monaten auf. Die beobachteten Unterschiede im Irisinspiegel über das Jahr hinweg waren bei den Frauen als auch bei den Männern statistisch signifikant ( $p < 0.01$ ). Auch wenn Männer und Frauen ähnliche saisonale Rhythmen zeigten, wiesen die Frauen in den beschriebenen Spitzenmonaten Dezember-Februar und Juli-August deutlich höhere Irisin-Spiegel als die Männer auf ( $p < 0.05$ ).



**Abbildung 2:** Boxplot der Irisin-Spiegel für Männer und Frauen nach Monaten getrennt.

In der Studienpopulation zeigte die ANOVA (Abbildung 3) Tendenzen in Richtung inverser Assoziationen zwischen Irisin und  $VO_{2,peak}$  sowie maximaler Leistung bei Männern. So lag bei den Männern der geschätzte Mittelwert für  $VO_{2,peak}$  und der maximalen Leistung um 138 ml/min beziehungsweise 11 Watt höher im 1. [ $VO_{2,peak}$  (ml/min): 2656 (95% Konfidenzintervall (CI) 2566; 2747); maximale Leistung (Watt):

207 (95%-CI 200; 214)] verglichen mit dem 3. Tertil [ $VO_{2,peak}$ : 2518 (95%-CI 2428; 2608); maximale Leistung: 196 (95%-CI 189; 202)]. Die Assoziation wurde durch den Ausschluss aller Männer mit einer Zeitverzögerung von mehr als einem Monat zwischen der Blutentnahme und CPET nicht maßgeblich beeinflusst, auch wenn sich infolge der kleineren Fallzahl leichte Veränderungen in den p-Werten zeigten (Abbildung 3). Bei Frauen zeigten sich hingegen Tendenzen zu einer positiven Assoziation zwischen Irisin und  $VO_{2,peak}$  sowie Sauerstoff-Puls, welche erst in der Subpopulation signifikant wurden. Irisin- Konzentrationen im 3. Tertil waren mit höheren  $VO_{2,peak}$  [1. Tertil: 1619 (95%-CI 1543, 1696); 3. Tertil 1738 (95%-CI 1669; 1806)] und Sauerstoff-Puls Werten verbunden [1. Tertil: 10,5 (95%-CI 10,0; 11,0); 3. Tertil 11,3 (95%-CI 10,8; 11,7)]. Zwischen Irisin und  $VO_{2@AT}$  wurde hingegen bei beiden Geschlechtern keine Assoziation gefunden.



**Abbildung 3:** Geschätzter Mittelwert des höchsten 10- Sekundendurchschnitts von  $VO_2$  in der letzten Minute der Arbeit ( $VO_{2,peak}$ ), Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle ( $VO_{2@AT}$ ), maximaler Ausgangsleistung und Sauerstoff-Puls mit 95% Konfidenzintervall als geschlechts- und monatspezifische Tertile von Irisin. Die Varianzanalyse wurde für Alter, BMI Rauchverhalten und Zeit zwischen der Hauptuntersuchung und des Lungenfunktionstests adjustiert.

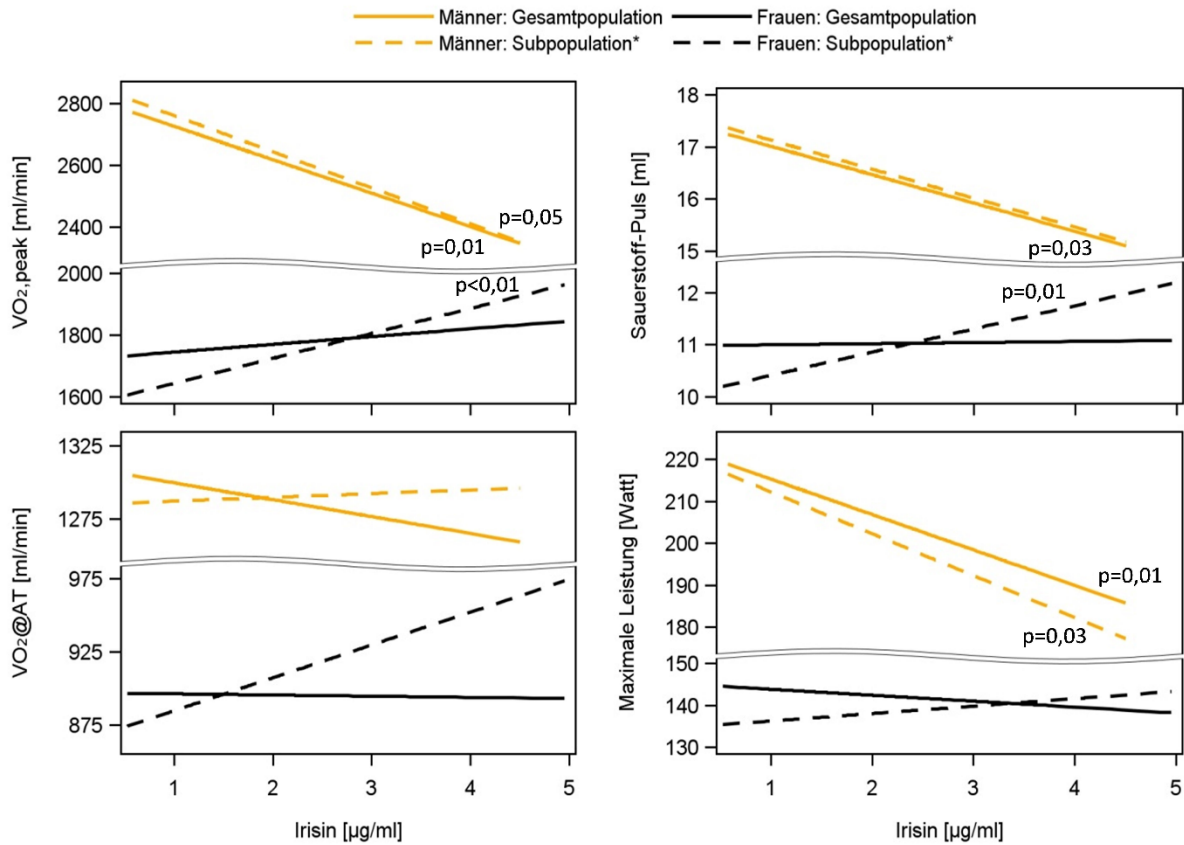
\*Als Subpopulation gilt eine Untergruppe mit einer maximalen Zeitverzögerung von einem Monat zwischen der Blutentnahme und CPET.

Adjustierte lineare Regressionsanalysen bestätigten die inversen Beziehungen zwischen Irisin und  $VO_{2,peak}$  sowie maximaler Leistung (Tabelle 2 und Abbildung 4) und zeigten zusätzlich eine entgegengesetzte Assoziation zum Sauerstoff-Puls bei Männern. Diese Ergebnisse wurden in der Gesamtpopulation als auch in der Subpopulation gefunden. Darüber hinaus konnte bei Frauen nach Ausschluss der Probandinnen mit einer großen Zeitverzögerung zwischen der Blutentnahme und der CPET eine signifikant positive Beziehung zwischen Irisin-Spiegeln und  $VO_{2,peak}$  wie auch Sauerstoff-Puls gefunden werden.

**Tabelle 2.** Assoziation zwischen Irisin und kardiopulmonalen Parametern

	VO <sub>2,peak</sub>		VO <sub>2@AT</sub>		Sauerstoff-Puls		Maximale Ausgangsleistung		
	beta (Stderr)	P	beta (Stderr)	p	beta (Stderr)	p	beta (Stderr)	p	
<b>Gesamtpopulation</b>									
<i>Männer (n = 334)</i>									
Model 1	-97,4 (43,1)	0,02	-6,4 (26,3)	0,81	-0,46 (0,25)	0,06	-7,66 (3,26)	0,02	
Model 2	-108,2 (43,8)	0,01	-11,5 (26,6)	0,67	-0,54 (0,25)	0,03	-8,43 (3,30)	0,01	
<i>Frauen (n = 406)</i>									
Model 1	27,6 (23,2)	0,23	1,0 (13,3)	0,94	0,05 (0,15)	0,72	-1,30 (1,87)	0,49	
Model 2	25,1 (23,3)	0,28	-0,8 (13,4)	0,95	0,02 (0,15)	0,89	-1,41 (1,89)	0,46	
<b>Teilnehmer mit einer maximalen Zeitverzögerung von einem Monat zwischen der Blutentnahme und kardiopulmonalen Belastungstests</b>									
<i>Männer (n = 177)</i>									
Model 1	-96,1 (58,4)	0,10	4,9 (35,4)	0,89	-0,44 (0,34)	0,19	-8,72 (4,41)	0,05	
Model 2	-116,9 (60,1)	0,05	2,6 (36,6)	0,94	-0,56 (0,34)	0,11	-9,98 (4,56)	0,03	
<i>Frauen (n = 225)</i>									
Model 1	80,5 (27,8)	<0,01	24,3 (18,7)	0,19	0,46 (0,18)	0,01	1,84 (2,30)	0,43	
Model 2	80,8 (28,1)	<0,01	22,4 (18,9)	0,24	0,45 (0,18)	0,01	1,78 (2,33)	0,45	

VO<sub>2,peak</sub>= höchster 10 Sekunden Durchschnitt von VO<sub>2</sub> in der letzten Minute der Arbeit; VO<sub>2@AT</sub> = VO<sub>2</sub> an der anaeroben Schwelle. Model 1) wurde für Alter, BMI, Zeit zwischen der Grunduntersuchung und dem Lungenfunktionstest und dem Monat der Grunduntersuchung adjustiert. Model 2) wurde zusätzlich für das Rauchverhalten, Blutzucker und Gesamtcholesterinlevel adjustiert.



**Abbildung 4:** Vorhergesagter Mittelwert des höchsten 10-Sekunden-Durchschnitts der Sauerstoffaufnahme in der letzten Minute der Arbeit (VO<sub>2,peak</sub>), Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle (VO<sub>2@AT</sub>), maximale Ausgangsleistung und Sauerstoff-Puls in Abhängigkeit des durch lineare Regressionsanalyse errechneten Irisin-Spiegels. \*Als Subpopulation gilt eine Untergruppe mit einer maximalen Zeitverzögerung von einem Monat zwischen der Blutentnahme und CPET. Die Modelle wurden jeweils für Alter, BMI, Rauchverhalten, Blutzucker, Gesamtcholesterinlevel und der Zeit zwischen der Grunduntersuchung und dem Lungenfunktionstest adjustiert.



## 4. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde die Assoziation zwischen zirkulierenden Irisin-Spiegeln und kardiopulmonaler Leistungsfähigkeit in einer nach Geschlechtern aufgeteilten Studienpopulation untersucht. Bei Männern wurde eine statistisch signifikante inverse Beziehung zwischen Irisin und der Leistungskapazität anhand der Spitzen-Sauerstoffaufnahme ( $VO_{2,peak}$ ,  $p=0,01$ ), Sauerstoff-Puls ( $p=0,03$ ) und maximaler Leistung ( $p=0,01$ ) gefunden. Bei Frauen hingegen wurden positive Beziehungen zwischen dem Irisin-Spiegel und  $VO_{2,peak}$  ( $p<0,01$ ) sowie dem Sauerstoff-Puls ( $p=0,01$ ) ermittelt, allerdings nur in der Subpopulation mit einer maximalen Zeitverzögerung von einem Monat zwischen der Blutentnahme und CPET.

### 4.1. Vergleich mit bisherigen Studienergebnissen bezüglich der Assoziation zwischen Irisin und Muskelarbeit

In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen bezüglich einer positiven Assoziation zwischen Irisin und  $VO_{2,peak}$  bei Frauen beschrieben Boström und Kollegen [1] einen belastungsabhängigen Anstieg der Expression von FNDC5 und durchgängig erhöhten Irisin-Spiegeln bei Mäusen nach drei Wochen Laufbandarbeit. Die Autoren [1] konnten diese Ergebnisse bei acht gesunden übergewichtigen Probanden durch die Beobachtung eines signifikanten Anstiegs der Irisin-Spiegel nach 10 Wochen Ausdauertraining bestätigen. Allerdings war die Studienpopulation eher klein und somit sind Rückschlüsse auf die Allgemeinbevölkerung kritisch zu sehen.

Später veröffentlichte Studien zeigten zusätzlich einen akuten Anstieg des Irisin-Spiegels nach 30 Minuten<sup>32</sup>, 45 Minuten<sup>13</sup> oder 54 Minuten<sup>28</sup> Ausdauertraining in unterschiedlichen Patientenkollektiven. Nach 90 Minuten oder 8 Wochen Training wiesen die Irisin-Spiegel der Probanden allerdings dem Ausgangswert vergleichbare Werte auf<sup>28</sup>. Noch bedeutsamer ist ein Abfall des Irisin-Spiegels, der nach 12 Wochen Training bei 13 gesunden und 13 prädiabetischen Teilnehmern<sup>13</sup> sowie in einer Meta-Analyse von über 173 gesunden Teilnehmern eines RCT (Randomised controlled trial) und 113 Teilnehmern einer NRS (Non- Randomised controlled Study)<sup>29</sup> gefunden

wurde. Der langzeitige Abfall des Irisin-Spiegels stimmt mit den von uns gefundenen, inversen Assoziationen zwischen Irisin und  $VO_{2,peak}$  sowie maximaler Leistung bei Männern überein. Allerdings stehen diese Ergebnisse im Widerspruch zu einer weiteren Studie <sup>53</sup>, bei der Herz-Lungen-Parameter von 163 japanischen Männern untersucht wurden, und die keine Korrelation zwischen Irisin-Spiegel und  $VO_{2,peak}$  ermitteln konnte.

Daneben gibt es eine große Anzahl an Studien <sup>35,37-44,54</sup>, die darauf hindeuten, dass keine Beziehung zwischen Irisin-Spiegel und körperlicher Belastung besteht. Eine Untersuchung von 102 Probanden, die entweder an einem Kraft- oder einem sauerstoffabhängigen Ausdauertrainingsprogramm von 26 Wochen teilnahmen, zeigte keinen belastungsabhängigen Anstieg des Irisin-Spiegels <sup>35</sup>. Weitere Studien, die bei gesunden <sup>37,38</sup> und übergewichtigen Probanden <sup>36</sup> sowie bei Dialysepatienten <sup>37</sup> und Patienten mit Anorexia nervosa <sup>39</sup> durchgeführt wurden, konnten ebenfalls keine signifikanten Veränderungen des Irisin-Spiegels nach sauerstoffabhängiger Belastung, Widerstandsbelastung und/oder Ausdauertraining feststellen.

Gründe für die teilweise widersprüchlichen Ergebnisse könnten die unterschiedliche Probandenzahl, unterschiedliches Probandenalter <sup>55</sup>, verschiedene Arten des Trainings <sup>56-60</sup> oder aber verschiedene laborchemische Methoden zur Bestimmung des Irisin-Spiegels <sup>61-67</sup> sein. Die Mehrheit dieser Studien wurde außerdem in einem experimentellen Umfeld und mit weniger als 100 Probanden durchgeführt. Die vorliegende Studie, basierend auf mehr als 700 Probanden, hat daher neue Kenntnisse hinsichtlich der laufenden Diskussion um Irisin und seiner Beziehung zur körperlichen Aktivität geliefert.

## **4.2. Geschlechtsspezifische Unterschiede in den betrachteten**

### **Assoziationen**

In der Mehrzahl der erwähnten Studien zur Assoziation zwischen Irisin und körperlicher Belastung wurden keine geschlechtsgetrennten Analysen durchgeführt, was ein weiterer Grund für die widersprüchlichen Studienergebnisse sein könnte. Im Einklang mit unseren Ergebnissen zeigten zwei weitere Studien <sup>68,69</sup> ebenfalls eine geschlechtsspezifische Antwort von körperlicher Belastung in Bezug auf zirkulierende

Irisin-Spiegel. Während bei Männern eine negative <sup>68</sup> oder eine schwächere Assoziation <sup>69</sup> zwischen Belastung und Irisin-Spiegel gefunden wurde, hat sich bei Frauen eine positive <sup>68</sup> bzw. stärkere <sup>69</sup> Assoziation nach Belastung herausgestellt. In Ruhe hingegen konnten in den Studien von Zügel et al. <sup>69</sup> und Anastasilakis <sup>33</sup> keine geschlechterspezifischen Unterschiede gefunden werden. Diese Erkenntnisse unterstützen unsere Ergebnisse bezüglich der Belastungsparameter bei Männern und Frauen. Scalzo et al. <sup>68</sup> weist diesbezüglich auf Unterschiede in den Transkriptionsleveln von FNDC5, Körperbau oder Sexualhormonen als mögliche Erklärung hin. Allerdings konnte in der vorliegenden Studienpopulation keine Beziehung zwischen Irisin-Spiegel und anthropometrischen Markern einschließlich BMI oder viszeralem und subkutanen Fett basierend auf MRT (Magnetresonanztomographie) Untersuchungen oder Sexualhormonen wie Testosteron, Androstenedion oder Estradiol gefunden werden (Daten nicht gezeigt). Aufgrund der Tatsache, dass die geschlechtsspezifische Beziehung zwischen Irisin-Spiegeln und der Belastungskapazität bisher nicht ausreichend erforscht wurde, gilt es in Zukunft die Ursachen für die geschlechtsspezifischen Unterschiede genauer zu eruieren.

### **4.3. Saisonale Schwankung von Irisin**

Zusätzlich zu den erwähnten Zusammenhängen zwischen Irisin und der körperlichen Leistungsfähigkeit sind wir auf einen bisher nicht berichteten saisonalen Rhythmus des Irisin-Spiegels gestoßen. Laut der gesammelten Daten zeigen die Irisin-Spiegel zwei jährliche Gipfel, einen während der Sommer- und den anderen während der Winterperiode. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte eine Schwankung der körperlichen Belastung im Laufe des Jahres sein. In den Sommermonaten ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Menschen draußen aktiv sind, Sport treiben und sich mehr bewegen, vermutlich größer. Dieses könnte zu einem belastungsbedingten Anstieg des Irisin-Spiegels führen. Während der Winterperiode gilt es für den Körper eine niedrigere Außentemperatur zu kompensieren. Daher dürfte die Gesamtarbeit durch erhöhten Energieaufwand und durch Zittern hervorgerufene Thermogenese während der Wintermonate höher sein. Diese spekulative Beziehung wurde indirekt ebenfalls von Dulian et al. <sup>70</sup> erforscht, wobei übergewichtige, nicht aktive Teilnehmer

nach einer Ganzkörperkältebehandlung tatsächlich leicht erhöhte Irisin-Spiegel aufwiesen, aktive übergewichtige Teilnehmer hingegen nicht. Auch die Hypothese einer Erhöhung des Irisin-Spiegels durch Zittern wurde durch eine Studie von Lee et al.<sup>71</sup> gestärkt. In seiner Studie<sup>71</sup> führte Zittern zu erhöhten Irisin-Spiegeln. Die These des Zitterns wurde außerdem durch eine Studie von Huh et al.<sup>72</sup> unterstützt, bei der in einer gesunden jungen Studienpopulation ein Ganzkörpervibrationstraining als Korrelat zum Zittern, zu einem kurzen akuten Anstieg des Irisin-Spiegels führte.

Eine andere spekulative Ursache für die höheren Irisin-Spiegel während der Wintermonate könnte der höhere Prozentsatz an Fettgewebe sein. Wie bereits beschrieben zeigen neuere Studien, dass Irisin auch ein Adipokin darstellt, welches von weißem Fettgewebe und vor allem von subkutanem Fettgewebe sezerniert wird<sup>67,73</sup>. Darüber hinaus könnte die Heterogenität zwischen den Probanden eine Ursache für die Unterschiede sein. In der vorliegenden Studie konnten allerdings keine signifikanten Unterschiede für generelle Charakteristika wie z.B. Alter, Zigarettenkonsum, BMI, Blutzuckerspiegel oder Anteil an Bluthochdruck (Daten nicht aufgeführt) zwischen den in den verschiedenen Monaten untersuchten Probanden detektiert werden. Daher werden weitere Studien benötigt, um den festgestellten jährlichen Rhythmus des Irisin-Spiegels aufzuklären.

#### **4.4. Stärken der Studie**

Die herausragende Stärke der vorliegenden Studie liegt in der großen Fallzahl und der genauen Beurteilung von Störfaktoren sowie der Belastungsparameter basierend auf standardisierten Protokollen. Zusätzlich wurden erstmals mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede in der Assoziation zwischen Irisin-Spiegel und körperlicher Belastung in einer großen Population untersucht. Darüber hinaus weist die Studie erstmals auf eine saisonale Rhythmik im Irisin-Spiegel hin und berücksichtigt die monatlichen Schwankungen im Irisin in den statistischen Analysen.

## 4.5. Limitationen der Studie

Bei der Interpretation der vorliegenden Studienergebnisse muss berücksichtigt werden, dass die Sauerstoffaufnahme mit der Belastung gleichgesetzt wurde. Wenn diese Beziehung starken Störvariablen ausgesetzt wäre, würde sich dieses negativ auf die Wertigkeit der Ergebnisse auswirken. Außerdem wurden Faktoren wie der menopausale Status, der den Muskelstatus der Frauen beeinflussen könnte, aufgrund von Mangel an verlässlichen Daten nicht berücksichtigt. Eine weitere Limitation der vorliegenden Studie ist der große zeitliche Abstand zwischen den CPET und der Grunduntersuchung. So beträgt die durchschnittliche Differenz zwischen beiden Zeitpunkten 28 Tage (maximal 100 Tage). Durch diesen Unterschied ist nicht auszuschließen, dass die Irisin-Spiegel bei CPET Untersuchung gegenüber der Blutabnahme verändert waren. In der Tat zeigten sich in der Sensitivitätsanalyse nach Ausschluss von Probanden mit mehr als einem Monat Abstand zwischen Blutabnahme und CPET Untersuchung positive Assoziationen zwischen Irisin und  $VO_{2,peak}$  sowie dem Sauerstoff-Puls, die in der Gesamtpopulation nicht zu beobachten waren.

Eine weitere Limitation der vorliegenden Studie ergibt sich aus dem querschnittlichen Studiendesign. Die Mehrheit der früheren Studien untersuchte zeitliche Änderungen im Irisin-Spiegel nach verschiedenen Arten der Belastung. In der vorliegenden Studie hingegen, wurden rein querschnittliche Assoziationen zwischen der durch kardiopulmonale Belastungstests gemessenen körperlichen Leistungsfähigkeit und dem Irisin-Spiegel untersucht. Laut einer aktuellen Meta-Analyse von Fox et al.<sup>74</sup> ist insbesondere der Trainingszustand neben dem BMI der entscheidende Prädiktor für den Irisin-Spiegel nach der Muskelarbeit. Die körperliche Aktivität der SHIP-Trend Probanden wurde im persönlichen Interview abgefragt. Probanden die mindestens eine Stunde Sport pro Woche berichteten, wurden als körperlich aktiv klassifiziert. Genauere Informationen zu regelmäßiger bzw. chronischer körperlicher Belastung oder akuter Belastung wurden allerdings nicht erhoben. Die direkte Wirkung von körperlicher Belastung auf den Irisin-Spiegel in Bezug auf verschiedene Belastungsarten und –dauern konnte daher in der vorliegenden Studie nicht erfasst werden. Darüber hinaus blieben die Ergebnisse der linearen Regressionsmodelle auch nach zusätzlicher Adjustierung für die körperliche Aktivität stabil (Tabelle S1).

Die widersprüchlichen Ergebnisse aus den verschiedenen oben diskutierten Studien könnten ebenfalls durch unterschiedliche Verteilungen von Störfaktoren wie Alter,

Körperbau, Cholesterinspiegel oder Fitnesszustand in den jeweiligen Studienpopulationen bedingt sein. Eine im Jahr 2012 veröffentlichte Studie <sup>32</sup> hat sich mit diesen Störfaktoren befasst und klar gezeigt, dass Irisin-Spiegel positiv mit Bizepsumfang (hier als Marker für Muskelmasse), BMI, Blutzucker, Ghrelin und Insulin-like Wachstumsfaktor I Spiegel korrelieren und andererseits negativ mit Alter, Insulin, Cholesterin und Adiponektin-Spiegeln im Zusammenhang stehen.

Neben den verschiedenen Einflussfaktoren, die Schwankungen des Irisin-Spiegels verursachen, sind die biologischen Mechanismen, die zu den zirkulierenden Irisin-Spiegeln führen, immer noch nicht vollständig geklärt. So zählt Irisin nicht nur zu den Myokinen, sondern, wie bereits erwähnt, auch zu den Adipokinen <sup>73,75</sup>, also zu den vom Fettgewebe sezernierten Zytokinen. Auch in weiteren Geweben wie Perikard, Rektum und Herz sowie den Nieren, Leber und Lunge wurde Irisin bereits entdeckt <sup>18,32,76</sup>. Daher ist es fragwürdig, ob Irisin tatsächlich größtenteils vom Muskelgewebe sezerniert wird oder nur zusätzlich nach Belastung ausgeschüttet wird.

Letztendlich weist auch die Labormethodik zur Irisin Bestimmung Limitationen auf. In SHIP-Trend, sowie in der Mehrzahl der bisherigen Studien wurde ein Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Adipogen AG, Liestal, Switzerland) zur Detektion von zirkulierendem Irisin verwendet. Jedoch wurde die Messgenauigkeit und Qualität der kommerziell erwerblichen ELISA Kits kritisiert und ihre Eignung zur Detektion gültiger Messwerte stark angezweifelt <sup>64,65</sup>. So beobachteten Cooke et al. <sup>64</sup> hohe intra- und interassay Variationskoeffizienten bei zwei unterschiedlichen Messsystemen (Adipogen ELISA und Phoenix Pharmazeuticals zweite Generation). Sanchis-Gomar et al. <sup>65</sup> beschrieben darüber hinaus eine posttranslationale Modifikationen, die das Gewicht von Irisin ändern und somit verfälschte Messwerte bedingen könnte. Trotz dieser Limitationen reiht sich unsere Studie in das Forschungsfeld ein und liefert neue Einblicke und Ansätze in die Zusammenhänge zwischen Irisin-Spiegeln und kardiopulmonaler Leistungsfähigkeit.

#### **4.6. Schlussfolgerungen**

Unsere Ergebnisse zur Assoziation zwischen Irisin und kardiopulmonaler Leistungsfähigkeit, die aus einer großen populations-basierten Studie gewonnenen wurden, zeigen kein klares Bild. Wir beobachteten geschlechtsspezifische Effekte, die

bei Männern auf eine verminderte Leistungsfähigkeit bei steigenden Irisin- Spiegeln, bei Frauen hingegen auf eine verbesserte Leistungsfähigkeit hindeuten.

Unsere Ergebnisse reihen sich somit in die Liste widersprüchlicher Ergebnisse voriger Studien zur Wirkung von Irisin im humanen Organismus ein. Gleichzeitig liefert die vorliegende Studie Hinweise auf jahreszeitliche Schwankungen der Irisin-Spiegel, die bei zukünftigen Analysen berücksichtigt werden sollten.

Fünf Jahre nach der Entdeckung Irisins konnte so noch immer kein großer Durchbruch des bekannten Muskelproteins als Hilfsmittel gegen Adipositas und andere Stoffwechselkrankheiten verzeichnet werden.

## 5. Zusammenfassung

Nachdem ab 2012 mehr als 200, vor allem kleinere, Untersuchungen, zum Thema Irisin veröffentlicht wurden, jedoch noch sehr große Diskrepanzen bezüglich der Ergebnisse herrschten, war Ziel meiner Arbeit, die Beziehung zwischen körperlicher Aktivität mittels kardiopulmonaler Parameter und Irisin-Spiegel erstmals in einer großen Population zu untersuchen. Hierzu wurden Daten von 740 Probanden der SHIP-Trend Kohorte herangezogen und geschlechtsspezifische Analysen zum Zusammenhang zwischen Irisin-Spiegeln und kardiopulmonaler Leistungsfähigkeit durchgeführt.

Die Ergebnisse weisen bei den Männern eine inverse Beziehung zwischen Irisin und Belastungskapazität gemessen mittels  $VO_{2,peak}$  und maximaler Leistung auf. Demgegenüber steht eine positive Beziehung zwischen Irisin und  $VO_{2,peak}$  bei Frauen, welche mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede nahelegt. Darüber hinaus zeigten die Analysen erstmals einen speziellen jahreszeitlichen Verlauf des Irisin-Spiegels mit zwei Gipfeln in den Winter- (Dezember bis Februar) und in den Sommermonaten (Juli bis August) mit höheren Werten im Vergleich zu den restlichen Monaten.

Trotz diverser Studien zum Thema Irisin gibt es noch viele ungeklärte Aspekte in Hinblick auf die Sekretion und Wirkung. So ist momentan noch unklar, ob Irisin auch von Fettzellen gebildet werden kann. Auch die laborchemischen Detektionsmethoden für Irisin sind verbesserungswürdig, um eine verlässliche und standardisierte Quantifikation von Irisin zu gewährleisten. Zudem sollte in Zukunft neben der Entstehung und Detektion Irisins die Wirkung auf die menschlichen Körperzellen eingehend geklärt werden, um weitergehende Schlüsse aus dem propagierten „Adipositas-Heilmittel“ Irisin zu ziehen. Die von uns erstmals entdeckten jahreszeitlichen Schwankungen des Irisins sind ein weiterer Punkt, der momentan noch zu wenig erforscht ist, und in künftigen Studien weiter analysiert und standardisiert werden sollte, um letztendlich Gewissheit bezüglich der Wirkungsweise des Irisins und der möglichen klinischen Relevanz dieses Hormons zu erlangen.



## 6. Literaturverzeichnis

- 1 Bostrom, P. *et al.* A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* **481**, 463-468, doi:10.1038/nature10777 (2012).
- 2 Pedersen, B. K. Muscles and their myokines. *J Exp Biol* **214**, 337-346, doi:10.1242/jeb.048074 (2011).
- 3 Pedersen, B. K., Akerstrom, T. C., Nielsen, A. R. & Fischer, C. P. Role of myokines in exercise and metabolism. *J Appl Physiol (1985)* **103**, 1093-1098, doi:10.1152/jappphysiol.00080.2007 (2007).
- 4 Pedersen, B. K. Muscle as a secretory organ. *Compr Physiol* **3**, 1337-1362, doi:10.1002/cphy.c120033 (2013).
- 5 Benatti, F. B. & Pedersen, B. K. Exercise as an anti-inflammatory therapy for rheumatic diseases-myokine regulation. *Nat Rev Rheumatol* **11**, 86-97, doi:10.1038/nrrheum.2014.193 (2015).
- 6 Brandt, C. & Pedersen, B. K. The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases. *J Biomed Biotechnol* **2010**, 520258, doi:10.1155/2010/520258 (2010).
- 7 Kaji, H. Effects of myokines on bone. *Bonekey Rep* **5**, 826, doi:10.1038/bonekey.2016.48 (2016).
- 8 Lightfoot, A. P. & Cooper, R. G. The role of myokines in muscle health and disease. *Curr Opin Rheumatol* **28**, 661-666, doi:10.1097/BOR.0000000000000337 (2016).
- 9 Iizuka, K., Machida, T. & Hirafuji, M. Skeletal muscle is an endocrine organ. *J Pharmacol Sci* **125**, 125-131 (2014).
- 10 Pedersen, L. & Hojman, P. Muscle-to-organ cross talk mediated by myokines. *Adipocyte* **1**, 164-167, doi:10.4161/adip.20344 (2012).

- 11 Chen, N., Li, Q., Liu, J. & Jia, S. Irisin, an exercise-induced myokine as a metabolic regulator: an updated narrative review. *Diabetes Metab Res Rev* **32**, 51-59, doi:10.1002/dmrr.2660 (2016).
- 12 Grygiel-Gorniak, B. & Puszczewicz, M. A review on irisin, a new protagonist that mediates muscle-adipose-bone-neuron connectivity. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **21**, 4687-4693 (2017).
- 13 Norheim, F. *et al.* The effects of acute and chronic exercise on PGC-1alpha, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J* **281**, 739-749, doi:10.1111/febs.12619 (2014).
- 14 Kiefer, F. W. The significance of beige and brown fat in humans. *Endocr Connect* **6**, R70-R79, doi:10.1530/EC-17-0037 (2017).
- 15 Erickson, H. P. Irisin and FNDC5 in retrospect: An exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte* **2**, 289-293, doi:10.4161/adip.26082 (2013).
- 16 Sanchez-Delgado, G. *et al.* Role of Exercise in the Activation of Brown Adipose Tissue. *Ann Nutr Metab* **67**, 21-32, doi:10.1159/000437173 (2015).
- 17 Bargut, T. C., Souza-Mello, V., Aguila, M. B. & Mandarim-de-Lacerda, C. A. Browning of white adipose tissue: lessons from experimental models. *Horm Mol Biol Clin Investig*, doi:10.1515/hmbci-2016-0051 (2017).
- 18 Aydin, S. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. *Peptides* **56**, 94-110, doi:10.1016/j.peptides.2014.03.021 (2014).
- 19 Elbelt, U., Hofmann, T. & Stengel, A. Irisin: what promise does it hold? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **16**, 541-547, doi:10.1097/MCO.0b013e328363bc65 (2013).
- 20 Hofmann, T., Elbelt, U. & Stengel, A. Irisin as a muscle-derived hormone stimulating thermogenesis--a critical update. *Peptides* **54**, 89-100, doi:10.1016/j.peptides.2014.01.016 (2014).
- 21 Kuhn, E., Binart, N. & Lombes, M. [Brown, white, beige: the color of fat and new therapeutic perspectives for obesity...]. *Ann Endocrinol (Paris)* **73 Suppl 1**, S2-8, doi:10.1016/S0003-4266(12)70009-4 (2012).

- 22 Novelle, M. G., Contreras, C., Romero-Pico, A., Lopez, M. & Dieguez, C. Irisin, two years later. *Int J Endocrinol* **2013**, 746281, doi:10.1155/2013/746281 (2013).
- 23 Pedersen, B. K. & Febbraio, M. A. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol* **8**, 457-465, doi:10.1038/nrendo.2012.49 (2012).
- 24 Qiu, S. *et al.* Association between circulating irisin and insulin resistance in non-diabetic adults: A meta-analysis. *Metabolism* **65**, 825-834, doi:10.1016/j.metabol.2016.02.006 (2016).
- 25 Gouveia, M. C., Vella, J. P., Cafeo, F. R., Affonso Fonseca, F. L. & Bacci, M. R. Association between irisin and major chronic diseases: a review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **20**, 4072-4077 (2016).
- 26 Bonfante, I. L. P. *et al.* Obese with higher FNDC5/Irisin levels have a better metabolic profile, lower lipopolysaccharide levels and type 2 diabetes risk. *Arch Endocrinol Metab* **61**, 524-533, doi:10.1590/2359-3997000000305 (2017).
- 27 Castillo-Quan, J. I. From white to brown fat through the PGC-1alpha-dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Dis Model Mech* **5**, 293-295, doi:10.1242/dmm.009894 (2012).
- 28 Kraemer, R. R., Shockett, P., Webb, N. D., Shah, U. & Castracane, V. D. A transient elevated irisin blood concentration in response to prolonged, moderate aerobic exercise in young men and women. *Horm Metab Res* **46**, 150-154, doi:10.1055/s-0033-1355381 (2014).
- 29 Qiu, S. *et al.* Chronic Exercise Training and Circulating Irisin in Adults: A Meta-Analysis. *Sports Med* **45**, 1577-1588, doi:10.1007/s40279-014-0293-4 (2015).
- 30 Daskalopoulou, S. S. *et al.* Plasma irisin levels progressively increase in response to increasing exercise workloads in young, healthy, active subjects. *Eur J Endocrinol* **171**, 343-352, doi:10.1530/EJE-14-0204 (2014).
- 31 Loffler, D. *et al.* Serum irisin levels are regulated by acute strenuous exercise. *J Clin Endocrinol Metab* **100**, 1289-1299, doi:10.1210/jc.2014-2932 (2015).

- 32 Huh, J. Y. *et al.* FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism* **61**, 1725-1738, doi:10.1016/j.metabol.2012.09.002 (2012).
- 33 Anastasilakis, A. D. *et al.* Circulating irisin in healthy, young individuals: day-night rhythm, effects of food intake and exercise, and associations with gender, physical activity, diet, and body composition. *J Clin Endocrinol Metab* **99**, 3247-3255, doi:10.1210/jc.2014-1367 (2014).
- 34 Huh, J. Y., Siopi, A., Mougios, V., Park, K. H. & Mantzoros, C. S. Irisin in response to exercise in humans with and without metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* **100**, E453-457, doi:10.1210/jc.2014-2416 (2015).
- 35 Hecksteden, A. *et al.* Irisin and exercise training in humans - results from a randomized controlled training trial. *BMC Med* **11**, 235, doi:10.1186/1741-7015-11-235 (2013).
- 36 Kurdiova, T. *et al.* Effects of obesity, diabetes and exercise on Fndc5 gene expression and irisin release in human skeletal muscle and adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *J Physiol* **592**, 1091-1107, doi:10.1113/jphysiol.2013.264655 (2014).
- 37 Moraes, C. *et al.* Resistance exercise training does not affect plasma irisin levels of hemodialysis patients. *Horm Metab Res* **45**, 900-904, doi:10.1055/s-0033-1354402 (2013).
- 38 Pekkala, S. *et al.* Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *J Physiol* **591**, 5393-5400, doi:10.1113/jphysiol.2013.263707 (2013).
- 39 Hofmann, T. *et al.* Irisin Levels are Not Affected by Physical Activity in Patients with Anorexia Nervosa. *Front Endocrinol (Lausanne)* **4**, 202, doi:10.3389/fendo.2013.00202 (2014).
- 40 Scharhag-Rosenberger, F. *et al.* Irisin does not mediate resistance training-induced alterations in resting metabolic rate. *Med Sci Sports Exerc* **46**, 1736-1743, doi:10.1249/MSS.0000000000000286 (2014).

- 41 Ellefsen, S. *et al.* Irisin and FNDC5: effects of 12-week strength training, and relations to muscle phenotype and body mass composition in untrained women. *Eur J Appl Physiol* **114**, 1875-1888, doi:10.1007/s00421-014-2922-x (2014).
- 42 Tsuchiya, Y., Ijichi, T. & Goto, K. Effect of sprint training on resting serum irisin concentration - Sprint training once daily vs. twice every other day. *Metabolism* **65**, 492-495, doi:10.1016/j.metabol.2015.12.006 (2016).
- 43 Kabak, B., Belviranli, M. & Okudan, N. Irisin and myostatin responses to acute high-intensity interval exercise in humans. *Horm Mol Biol Clin Investig*, doi:10.1515/hmbci-2018-0008 (2018).
- 44 Bubak, M. P. *et al.* Irisin and Fibronectin Type III Domain-Containing 5 Responses to Exercise in Different Environmental Conditions. *Int J Exerc Sci* **10**, 666-680 (2017).
- 45 Volzke, H. *et al.* Cohort profile: the study of health in Pomerania. *Int J Epidemiol* **40**, 294-307, doi:10.1093/ije/dyp394 (2011).
- 46 Jones, N. L., Makrides, L., Hitchcock, C., Chypchar, T. & McCartney, N. Normal standards for an incremental progressive cycle ergometer test. *Am Rev Respir Dis* **131**, 700-708, doi:10.1164/arrd.1985.131.5.700 (1985).
- 47 Koch, B. *et al.* Reference values for cardiopulmonary exercise testing in healthy volunteers: the SHIP study. *Eur Respir J* **33**, 389-397, doi:10.1183/09031936.00074208 (2009).
- 48 ATS/ACCP Statement on cardiopulmonary exercise testing. *Am J Respir Crit Care Med* **167**, 211-277, doi:10.1164/rccm.167.2.211 (2003).
- 49 Force, E. R. S. T. *et al.* Recommendations on the use of exercise testing in clinical practice. *Eur Respir J* **29**, 185-209, doi:10.1183/09031936.00046906 (2007).
- 50 Wasserman, K. *Principles of exercise testing and interpretation : including pathophysiology and clinical applications*. 4th edn, (Lippincott Williams & Wilkins, 2005).

- 51 Meyer, K. *et al.* Short-term reproducibility of cardiopulmonary measurements during exercise testing in patients with severe chronic heart failure. *American heart journal* **134**, 20-26 (1997).
- 52 Stone C., K. C. *Additive splines in statistics.* (American statistical Association, 1985).
- 53 Tanisawa, K. *et al.* Common single nucleotide polymorphisms in the FNDC5 gene are associated with glucose metabolism but do not affect serum irisin levels in Japanese men with low fitness levels. *Metabolism* **63**, 574-583, doi:10.1016/j.metabol.2014.01.005 (2014).
- 54 Irving, B. A., Still, C. D. & Argyropoulos, G. Does IRISIN Have a BRITE Future as a Therapeutic Agent in Humans? *Current obesity reports* **3**, 235-241, doi:10.1007/s13679-014-0091-1 (2014).
- 55 Gmiat, A. *et al.* The impact of a single bout of high intensity circuit training on myokines' concentrations and cognitive functions in women of different age. *Physiol Behav* **179**, 290-297, doi:10.1016/j.physbeh.2017.07.004 (2017).
- 56 Tsuchiya, Y., Ando, D., Takamatsu, K. & Goto, K. Resistance exercise induces a greater irisin response than endurance exercise. *Metabolism* **64**, 1042-1050, doi:10.1016/j.metabol.2015.05.010 (2015).
- 57 Tsuchiya, Y. *et al.* High-intensity exercise causes greater irisin response compared with low-intensity exercise under similar energy consumption. *The Tohoku journal of experimental medicine* **233**, 135-140 (2014).
- 58 Kim, H. J. *et al.* Effect of aerobic training and resistance training on circulating irisin level and their association with change of body composition in overweight/obese adults: a pilot study. *Physiological research* **65**, 271-279 (2016).
- 59 Tsuchiya, Y., Mizuno, S., Morii, I. & Goto, K. Irisin Response To Down-hill Running Exercise In Humans: 3692 Board #131 June 4, 8: 00 AM - 9: 30 AM. *Med Sci Sports Exerc* **48**, 1029, doi:10.1249/01.mss.0000488095.48094.60 (2016).

- 60 Blizzard LeBlanc, D. R. *et al.* Exercise-induced irisin release as a determinant of the metabolic response to exercise training in obese youth: the EXIT trial. *Physiol Rep* **5**, doi:10.14814/phy2.13539 (2017).
- 61 Albrecht, E. *et al.* Irisin - a myth rather than an exercise-inducible myokine. *Scientific reports* **5**, 8889, doi:10.1038/srep08889 (2015).
- 62 Jedrychowski, M. P. *et al.* Detection and Quantitation of Circulating Human Irisin by Tandem Mass Spectrometry. *Cell metabolism* **22**, 734-740, doi:10.1016/j.cmet.2015.08.001 (2015).
- 63 Montes-Nieto, R., Martinez-Garcia, M. A., Luque-Ramirez, M. & Escobar-Morreale, H. F. Differences in analytical and biological results between older and newer lots of a widely used irisin immunoassay question the validity of previous studies. *Clin Chem Lab Med* **54**, e199-201, doi:10.1515/cclm-2015-1071 (2016).
- 64 Cooke, A. B., Gomez, Y. H. & Daskalopoulou, S. S. 5 years later: irisin detection still an issue. *Eur J Endocrinol* **177**, C1-C4, doi:10.1530/EJE-17-0572 (2017).
- 65 Sanchis-Gomar, F., Alis, R. & Lippi, G. Circulating irisin detection: Does it really work? *Trends Endocrinol Metab* **26**, 335-336, doi:10.1016/j.tem.2015.05.004 (2015).
- 66 Sanchis-Gomar, F., Alis, R., Pareja-Galeano, H., Romagnoli, M. & Perez-Quilis, C. Inconsistency in circulating irisin levels: what is really happening? *Horm Metab Res* **46**, 591-596, doi:10.1055/s-0033-1363283 (2014).
- 67 Crujeiras, A. B., Pardo, M. & Casanueva, F. F. Irisin: 'fat' or artefact. *Clinical endocrinology* **82**, 467-474, doi:10.1111/cen.12627 (2015).
- 68 Scalzo, R. L. *et al.* Regulators of human white adipose browning: evidence for sympathetic control and sexual dimorphic responses to sprint interval training. *PLoS one* **9**, e90696, doi:10.1371/journal.pone.0090696 (2014).
- 69 Zugel, M. *et al.* The role of sex, adiposity, and gonadectomy in the regulation of irisin secretion. *Endocrine* **54**, 101-110, doi:10.1007/s12020-016-0913-x (2016).
- 70 Dulian, K. *et al.* The whole body cryostimulation modifies irisin concentration and reduces inflammation in middle aged, obese men. *Cryobiology* **71**, 398-404, doi:10.1016/j.cryobiol.2015.10.143 (2015).

- 71 Lee, P. *et al.* Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell metabolism* **19**, 302-309, doi:10.1016/j.cmet.2013.12.017 (2014).
- 72 Huh, J. Y., Mougios, V., Skraparlis, A., Kabasakalis, A. & Mantzoros, C. S. Irisin in response to acute and chronic whole-body vibration exercise in humans. *Metabolism* **63**, 918-921, doi:10.1016/j.metabol.2014.04.001 (2014).
- 73 Roca-Rivada, A. *et al.* FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PloS one* **8**, e60563, doi:10.1371/journal.pone.0060563 (2013).
- 74 Fox, J. *et al.* Effect of an acute exercise bout on immediate post-exercise irisin concentration in adults: A meta-analysis. *Scand J Med Sci Sports* **28**, 16-28, doi:10.1111/sms.12904 (2018).
- 75 Rodriguez, A., Becerril, S., Ezquerro, S., Mendez-Gimenez, L. & Fruhbeck, G. Crosstalk between adipokines and myokines in fat browning. *Acta physiologica (Oxford, England)* **219**, 362-381, doi:10.1111/apha.12686 (2017).
- 76 Aydin, S. *et al.* A comprehensive immunohistochemical examination of the distribution of the fat-burning protein irisin in biological tissues. *Peptides* **61**, 130-136, doi:10.1016/j.peptides.2014.09.014 (2014).



## 7. Anhang

### 7.1. Wissenschaftliche Arbeit

**Association of circulating irisin and cardiopulmonary exercise capacity in healthy volunteers: results of the Study of Health in Pomerania.**

Nils Kerstholt<sup>1</sup>, Ralf Ewert<sup>2</sup>, Matthias Nauck<sup>1,3</sup>, Thomas Spielhagen<sup>2</sup>, Tom Bollmann<sup>2</sup>, Beate Stubbe<sup>2</sup>, Stephan B. Felix<sup>2,3</sup>, Henri Wallaschofski<sup>1</sup>, Sven Gläser<sup>2\*</sup>, Nele Friedrich<sup>1,3\*</sup>

\*equally contributed

- 1) Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald
- 2) Department of Internal Medicine B – Cardiology, Intensive Care, Pulmonary Medicine and Infectious Diseases, University Medicine Greifswald
- 3) DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), Greifswald partner site, Greifswald, Germany

RESEARCH ARTICLE

Open Access

# Association of circulating irisin and cardiopulmonary exercise capacity in healthy volunteers: results of the Study of Health in Pomerania

Nils Kerstholt<sup>1</sup>, Ralf Ewert<sup>2</sup>, Matthias Nauck<sup>1,3</sup>, Thomas Spielhagen<sup>2</sup>, Tom Bollmann<sup>2</sup>, Beate Stubbe<sup>2</sup>, Stephan B Felix<sup>2,3</sup>, Henri Wallaschofski<sup>1</sup>, Sven Gläser<sup>2†</sup> and Nele Friedrich<sup>1,3\*†</sup>

## Abstract

**Background:** Irisin, a recently discovered myokine, is assumed to be secreted by muscle cells in response to exercise and is involved in the regulation of energy metabolism by browning white adipose tissue cells. However, due to the fact that previous studies revealed conflicting results concerning the association between irisin and exercise, the aim of the present study was to investigate the potential relationship between irisin and exercise capacity in a population-based setting.

**Methods:** From the population-based Study of Health in Pomerania (SHIP-TREND) 334 men and 406 women with irisin measurements were selected and a standardised symptom limited cardiopulmonary exercise test was used. Exercise capacity was quantified by oxygen uptake at anaerobic threshold ( $VO_2@AT$ ), peak exercise (peak $VO_2$ ) and maximum power output at peak exertion. In addition, the oxygen pulse was assessed. ANOVA and multivariable linear regression analyses were performed stratified by sex and adjusted for age, weight, height and smoking.

**Results:** In men, we observed inverse associations between irisin serum concentration and exercise capacity assessed by peak $VO_2$  and maximum power output. In contrast, in women a trend towards a positive relationship between irisin and peak $VO_2$  was detected, whereas none of the other parameters showed significant associations with irisin.

**Conclusion:** Based on a large population sample, our results did not confirm the previous reported positive linkage between exercise and irisin. Thus the relationship needs further investigation in particular with respect to sex differences.

**Keywords:** Irisin, Cardiopulmonary exercise capacity, Ergometer, SHIP-TREND

## Background

Myokines have an important role in the human body, especially in coordinating the different organs and tissues such as the adipose tissue, liver, pancreas, bones, brain and muscle tissue; also influencing human homeostasis [1-3]. In 2012, Boström et al. [4] discovered a new

myokine called irisin, which is secreted by muscle tissue and is transcribed from the FNDC5 (fibronectin type III domain-containing protein 5) gene. Irisin is assumed to affect white adipose tissue cells by browning them, as well as increasing energy expenditure. Furthermore, irisin seems to promote increased oxygen consumption and energy supply [5]. These effects suggest that irisin might be the source of a potential therapeutic approach to treating obesity and diabetes mellitus, two major diseases in industrialized countries [6-11].

According to Norheim et al. [12] irisin was first known as a peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  co-

\* Correspondence: nele.friedrich@uni-greifswald.de

<sup>†</sup>Equal contributors

<sup>1</sup>Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Straße, 17475 Greifswald, Germany

<sup>3</sup>DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), Greifswald partner site, Greifswald, Germany

Full list of author information is available at the end of the article

activator-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) dependent myokine with browning effects in murine adipocytes. In 2013, researchers [12] found a positive correlation with human muscle cells among 26 diabetic and non-diabetic subjects aged 40–65 years. The study was able to show an increase in mRNA for PGC1  $\alpha$  and FNDC5 after 12 weeks of physical training in both control and pre-diabetes human subjects. Furthermore, long-term training led to an overall reduction in circulating irisin levels whereas an increase in irisin were only found after acute exercise. A similar trend was shown among 12 subjects undergoing treadmill exercise [13]. A temporary increase in irisin levels during the first hour of exercise was revealed, whereas after 90 minutes of exercise irisin levels were no longer elevated. In contrast to these studies, several investigations [14–17] failed to confirm these findings. One study published by Hecksteden et al. [17] based on an experiment including 102 participants aged 30–60 years exposed to aerobic endurance training and strength endurance training. This study and three others [14–16] did not confirm an exercise related increase in irisin levels.

However, as Hofmann et al. [8] and Novelle et al. [10] have already stated, the results on “the regulation of Irisin by different types of exercise are partly conflicting and effects were only shown in highly selective patient populations so far” and therefore “it is still necessary to deepen in several aspects in order to clarify its full potential as a meaningful drug target in human disease states”.

Therefore the aim of the present study is to investigate the association of irisin serum concentration with exercise capacity in a subsample of the Study of Health in Pomerania Trend (SHIP-TREND).

## Methods

SHIP-TREND is a population-based study in Northeast Germany including the cities of Greifswald, Stralsund, Anklam and 29 surrounding communities [18]. A representative sample of 8016 adults aged 20 to 79 years was randomly selected from population registries into 24 age- and sex-specific strata. In total 4420 subjects participated in the baseline examination of SHIP-TREND between September 2008 and September 2012. The study follows the recommendations of the Declaration of Helsinki and was approved by the ethics committee of the University of Greifswald. All participants gave written informed consent.

Measurements of irisin levels were available for a subsample of 1000 subjects. Of these, 260 subjects were excluded due to the presence of at least one of the following conditions: no participation in cardiopulmonary exercise testing (CPET), pulmonary function testing performed later than 100 days after core examination, estimated glomerular filtration rate <30 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> as well as conditions related to cardiovascular diseases

including pacemaker, aortic or mitral valve stenosis, intake of digitalis glycosides [anatomical therapeutic chemical (ATC) code C01AA] or selective calcium channel blockers with direct cardiac effects (ATC code C08D). Those with missing values for confounding factors were also excluded. The final study population thus comprised 740 individuals (334 men, 406 women).

## Measurements

Information on age, gender, socio-demographic characteristics and medical histories were obtained by computer-aided personal interviews. Smoking status and physical activity were assessed by self-report. Individuals who participated in physical training during summer or winter for at least one hour a week were classified as being physically active. Waist circumference (WC) was measured to the nearest 0.1 cm using an inelastic tape midway between the lower rib margin and the iliac crest in the horizontal plane, with the subject standing comfortably with weight distributed evenly on both feet. The measurement was taken at the level of the narrowest part of the waist. All anthropometric measurements were taken in accordance with World Health Organization standards.

During the core examination of all participants, fasting blood samples were drawn from the cubital vein in the supine position and serum aliquots were prepared for immediate analysis and for storage at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Irisin levels were measured by a competitive enzyme-linked immunosorbent assay (Adipogen AG, Liestal, Switzerland) with a limit of detection of 0.001  $\mu\text{g/ml}$ . During the course of the study the coefficient of variation was 11.57%.

## Exercise testing and gas exchange variables

A symptom-limited exercise test using a calibrated electromagnetically braked cycle ergometer with an electrical seat height adjustment (Ergoselect 100, Ergoline, Germany) was performed according to a modified Jones protocol (stepwise increase in work load of 16 Watts/minute, starting with unloaded cycling plus the ergometer related permanent load) [19]. Gas exchange and ventilatory variables were analysed breath by breath averaged over 10-second intervals using a computer-based system; study details are given elsewhere [20]. In the absence of chest pain and ECG abnormalities, all tests were continued as symptom-limited (volitional exertion, dyspnoea or fatigue). Prior to the test, patients were encouraged to reach maximal exhaustion, while during exercise no further motivational interventions were made. All tests were performed at room air according to current guidelines for exercise testing, with continuous monitoring of ECG, blood pressure and oxygen saturation [21,22].

Peak oxygen uptake (peakVO<sub>2</sub>) was defined as the highest 10-second average of VO<sub>2</sub> in the last minute of exercise. The oxygen uptake at anaerobic threshold (VO<sub>2@AT</sub>) was

determined according to Wasserman et al. [23]. The determination of anaerobic threshold (AT) was based on three methods: non-invasive determination by gas exchange analysis by investigating the relation of  $\dot{V}O_2$  to  $\dot{V}CO_2$  (V-slope method), end-tidal gas concentrations over time and ventilatory equivalents for oxygen and carbon dioxide over time [23]. At least two of the three methods had to be compliant. Maximal power output was characterised as the highest reached power in Watts (W) which was maintained for at least 20 seconds on the bicycle ergometer during exercise. All investigated parameters have been shown to be reliably reproducible [24]. Exercise duration was investigated as from the start of exercise (without resting period) up to its termination.

In the present study CPET was performed up to 100 days after core investigation (blood sampling). The median time-lag was 28 days (25<sup>th</sup> percentile 9 days; 75<sup>th</sup> percentile 48 days). All analyses were also performed in a subpopulation of 402 subjects with a maximal time-lag of one month [median 11 days (25<sup>th</sup> percentile 3 days; 75<sup>th</sup> percentile 21 days)].

#### Statistical analysis

Continuous data are expressed as median (25<sup>th</sup> percentile; 75<sup>th</sup> percentile). Nominal data are expressed as percentages. For bivariate analyses the Kruskal-Wallis test (continuous data) or  $\chi^2$ -test (nominal data) were used to compare men and women, as well as participants and non-participants. Analysis of variance (ANOVA) was carried out to calculate adjusted means for CPET parameters in groups (categorisation according to sex- and months-specific tertiles). Multivariable linear regression models were separately performed in men and women to estimate the independent associations of irisin as a continuous variable with CPET parameters. To detect possible nonlinear associations, for both analyses models with restricted cubic splines with 3 knots pre-specified located at the 5<sup>th</sup>, 50<sup>th</sup>, and 95<sup>th</sup> percentile as recommended by Stone and Koo [25] were compared by a likelihood ratio test to the fit of the linear model. The full models were adjusted for age, body-mass index, smoking, time between core examination and CPET and months of core examination. Furthermore, in linear regression analyses glucose and total cholesterol levels were tested as further potential confounders. Sensitivity analyses were performed with either the exclusion of 1) all subjects with chronic obstructive pulmonary disease (COPD), defined as FEV1/FVC <0.7 or intake of drugs for obstructive airway diseases (ATC code R03), or 2) all subjects with a time-lag between blood sampling and CPET of more than one month. A value of  $p < 0.05$  was considered statistically significant. Statistical analyses were performed with SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

#### Results

Men and women were compared according to general characteristics (Table 1). Women were more often never smokers and had a lower WC and body-mass index than men. Furthermore, women were less often affected by hypertension and had lower blood glucose but higher total cholesterol levels when compared to men. With respect to CPET parameters, men had higher levels of peak $\dot{V}O_2$ ,  $\dot{V}O_2@AT$ , oxygen pulse and a higher power output at peak exercise than women. Regarding irisin no overall sex differences were apparent. However, our data showed a strong annual rhythm of irisin levels. As displayed in Figure 1, irisin showed peak values in the winter (December – February) and summer months (July – August) compared to the remaining months. Even if men and women showed similar rhythms, women exhibited significant higher irisin levels in selected months. Compared to non-participants, the participants were more often women, never smokers, more physically active, had a lower body-mass index and glucose levels and were less often affected by hypertension.

In the whole population, ANOVA (Figure 2) revealed trends towards inverse associations between categories of irisin and peak $\dot{V}O_2$  as well as maximum power output among men. The estimated mean level of peak $\dot{V}O_2$  or maximum power output was 138 ml/min or 11 watts higher in the first [peak $\dot{V}O_2$  (ml/min): 2656 (95% confidence interval (CI) 2566, 2747); maximum power output (watt): 207 (95%-CI 200, 214)] compared to the third tertile [peak $\dot{V}O_2$ : 2518 (95%-CI 2428, 2518); maximum power output: 196 (95%-CI 189, 202)], respectively. The associations became weaker after the exclusion of men with a time-lag between blood sampling and CPET of more than one month (Figure 2). However, still higher estimated mean levels of peak $\dot{V}O_2$  [1<sup>st</sup> tertile: 2639 (95%-CI 2527, 2752); 3<sup>rd</sup> tertile: 2508 (95%-CI 2359, 2656)] or maximum power output [1<sup>st</sup> tertile: 207 (95%-CI 199, 216); 3<sup>rd</sup> tertile: 193 (95%-CI 183, 205)] could be observed in the first compared to the third irisin tertile. In the subgroup of women with a maximal time-lag of one month, categorical analyses suggest a positive association between irisin tertiles and oxygen pulse [1<sup>st</sup> tertile: 10.5 (95%-CI 10.0, 11.0); 3<sup>rd</sup> tertile: 11.3 (95%-CI 10.8, 11.7)]. No association between irisin and  $\dot{V}O_2@AT$  or oxygen pulse was found in either sex.

Fully adjusted linear regression analyses confirmed the inverse association between irisin and peak $\dot{V}O_2$  as well as maximum power output (Figure 3 and Table 2) and additionally revealed an inverse relationship with oxygen pulse in men. These findings were independent of the study population used. Furthermore, among women, after excluding those with a large time-lag between blood sampling and CPET, significant positive associations between



**Table 1 Descriptive statistics of the study sample**

	Non-participants (N = 3658)	Study population				
		Complete (N = 740)	p <sup>†</sup>	Men (N = 322)	Women (N = 418)	p <sup>‡</sup>
Age (years)*	53 (39.5; 65)	51 (41; 61)	<0.01	50 (39; 61)	52 (41; 61)	0.54
Men (%)	49.2	45.1	0.04	-	-	
Smoking (%)			<0.01			<0.01
never smokers	35.3	42.4		32.0	51.0	
former smokers	36.4	37.8		48.5	29.1	
current smokers	28.4	19.7		19.5	19.9	
Physical activity (%)	67.9	75.0	<0.01	73.9	75.8	0.55
Waist circumference (cm)	91.4 (80.9; 102.0)	87.1 (78.5; 97.0)	<0.01	94.0 (86.5; 102.5)	81.1 (74.0; 90.0)	<0.01
Body-mass-index (kg/m <sup>2</sup> )	27.7 (24.5; 31.3)	26.8 (24.1; 30.0)	<0.01	27.8 (25.0; 30.3)	26.1 (23.2; 29.5)	<0.01
Glucose (mmol/l)	5.4 (5.0; 6.0)	5.3 (4.9; 5.7)	<0.01	5.4 (5.1; 5.9)	5.2 (4.9; 5.6)	<0.01
Total cholesterol (mmol/l)	5.4 (4.6; 6.1)	5.4 (4.7; 6.2)	0.11	5.3 (4.6; 6.1)	5.5 (4.9; 6.2)	0.02
Hypertension (%)	50.1	38.7	<0.01	43.1	35.1	0.03
Irisin (µg/ml)	-	-	-	1.97 (1.47; 2.70)	2.01 (1.48; 2.71)	0.69
peak VO <sub>2</sub> (ml/min)	-	-	-	2600 (2183; 3000)	1611 (1400; 1925)	<0.01
VO <sub>2</sub> @AT (ml/min)	-	-	-	1200 (1000; 1400)	850 (800; 1000)	<0.01
Oxygen pulse (ml)	-	-	-	16.1 (14.4; 18.1)	10.9 (9.3; 12.2)	<0.01
Maximum power output (watt)	-	-	-	196 (180; 228)	132 (116; 148)	<0.01

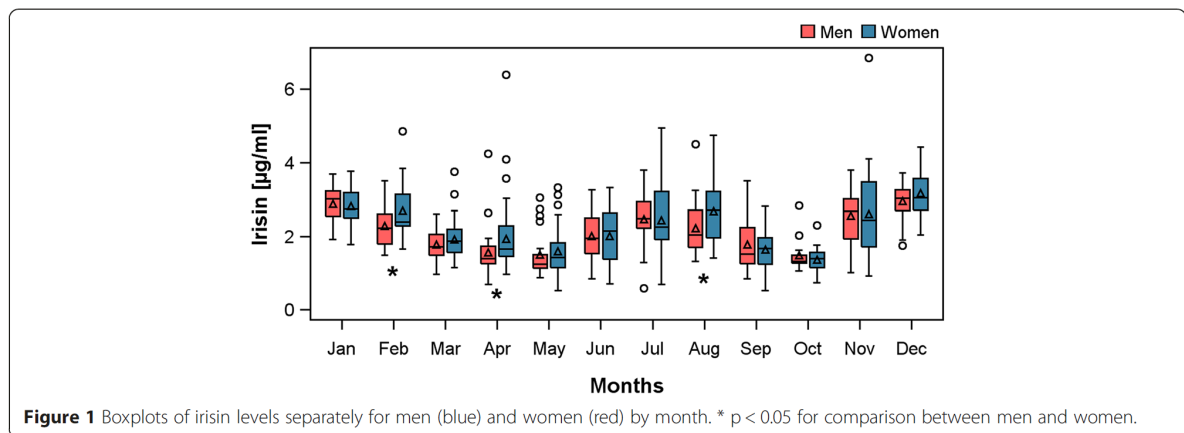
Peak VO<sub>2</sub> = highest 10-second average of VO<sub>2</sub> in the last minute of exercise; VO<sub>2</sub>@AT = VO<sub>2</sub> at lactate threshold. Continuous data are expressed as median (25<sup>th</sup> and 75<sup>th</sup> percentiles; nominal data are given as percentages.  $\chi^2$ -test (nominal data) or Kruskal-Wallis test (interval data) were used to compare non-participants with participants (<sup>†</sup>) or participating men and women (<sup>‡</sup>). \*Age at core examination.

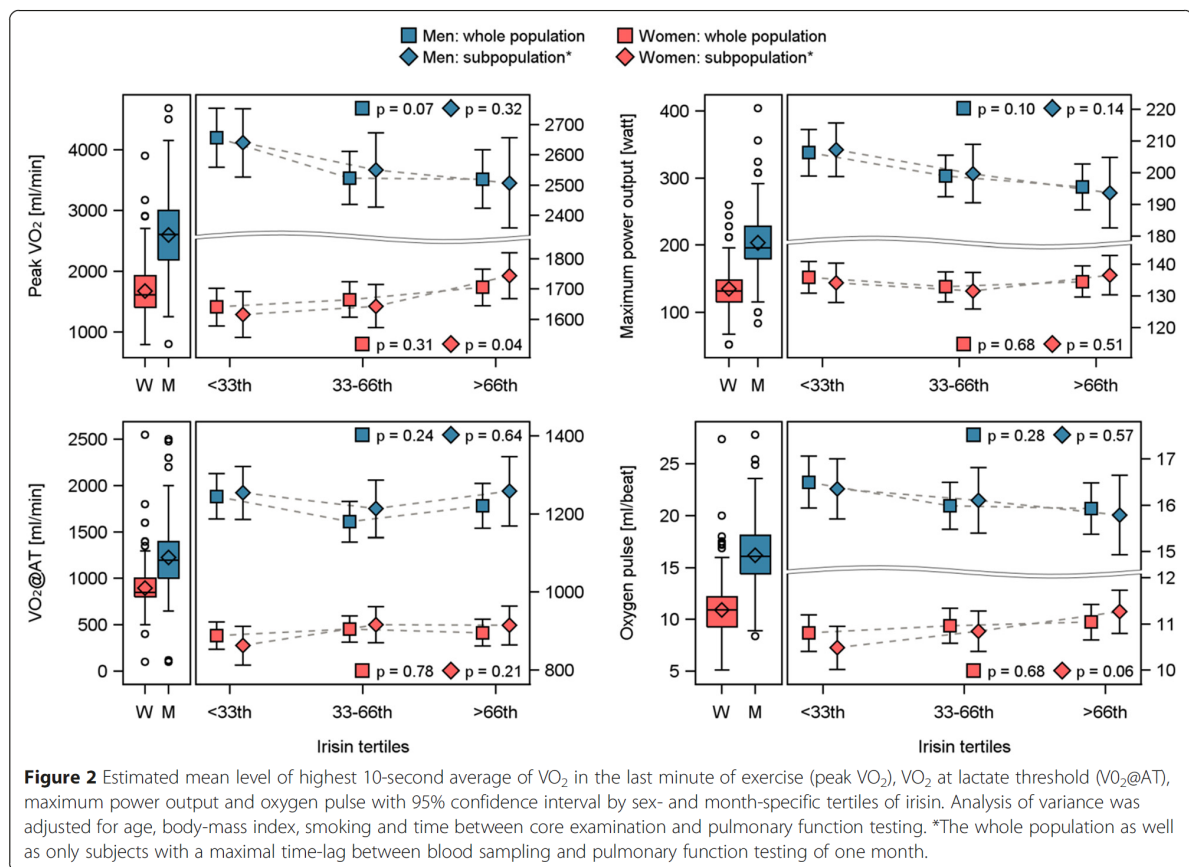
continuous irisin levels and peakVO<sub>2</sub> or oxygen pulse became apparent in a fully adjusted model. No further significant associations were found in women. The additional adjustment for self-reported physical activity did not change the detected findings (Additional file 1: Table S1). The exclusion of subjects with COPD also confirmed the reported findings of the linear regression analyses even though some of the relationships were short of being statistically significant (Additional file 1: Table S2). One reason for the weaker associations might be the loss of power.

**Discussion**

In the present study inverse associations between irisin and exercise capacity assessed by peakVO<sub>2</sub>, oxygen pulse and maximum power output were found among men. Furthermore, in a subgroup of women with a time-lag between blood sampling and CPET of less than one month, however, positive relationships between irisin and peakVO<sub>2</sub> as well as oxygen pulse were detected.

Irisin is a recently discovered PGC1 $\alpha$  dependent myokine. Originally PGC1 $\alpha$  has been described as a co-activator of biological mechanisms linked with energy



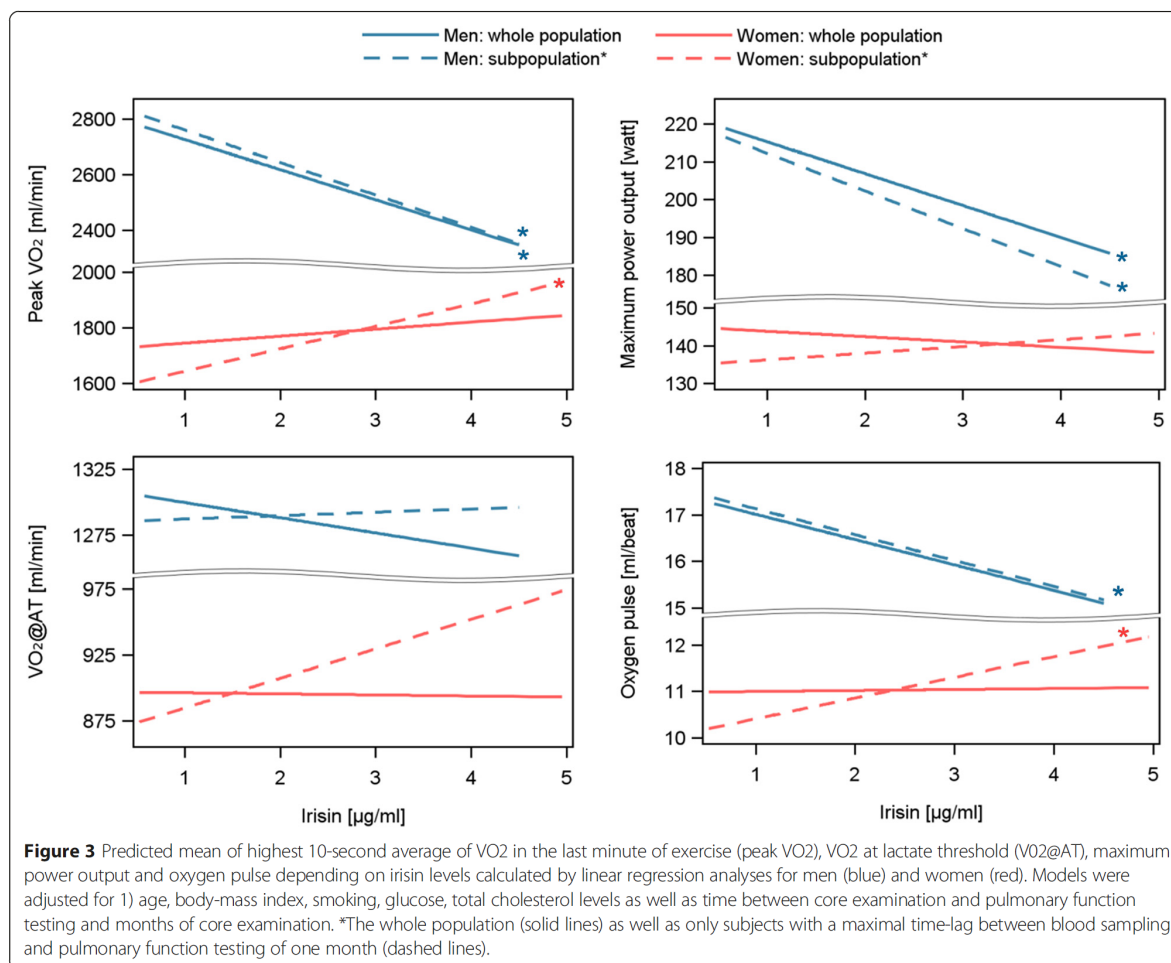


metabolism. In concordance with our results toward a positive association between irisin and peak $VO_2$  in women, Boström and colleagues [4] reported an exercise-related increase in expression of FNDC5 and consequently increased irisin levels in mice after three weeks of free wheel running. The authors also confirmed their findings among eight healthy but obese participants by showing a significant increase in irisin levels after 10 weeks of endurance training. However, the study population was rather small to draw conclusions from these results. Recently published studies [12,13,26] further revealed an acute increase in irisin levels after 30 min, 45 min or 54 min of endurance exercise. However, after 90 min or 8 weeks of training irisin levels were no longer elevated [13] and even more interesting, after 12 weeks of training a decrease in irisin levels was observed in 13 healthy and 13 pre-diabetic participants [12]. The long-term reduction in irisin levels is in concordance with present detected inverse relationships between irisin and peak $VO_2$  or maximum power output among men. However, these studies are contradicted by a study [27] among 163 Japanese men also using cardiopulmonary exercise parameters which did not revealed any correlation between peak  $VO_2$  and irisin levels. Reasons for the

different findings might be the different sample size as well as different methods used to measure irisin levels.

In general, there is a broad range of studies [15-17] that indicate no relationship between exercise and irisin levels. An investigation among 102 participants who took part in either a strength or aerobic endurance training program for 26 weeks did not show any exercise-induced increase in irisin levels [17]. Further studies conducted among healthy [15,16] and obese subjects [14] as well as among haemodialysis patients [15] and patients with anorexia nervosa [28], also showed no significant alterations in irisin levels after aerobic exercise, resistance exercise or/and endurance exercise. The majority of these studies were conducted in experimental settings and included less than 100 subjects, therefore the present results based on over 700 subjects might further contribute to the ongoing discussion of the physiological and pathophysiological actions of irisin.

Most of the studies analysed both men and women at the same time, which might be a further reason for the inconsistent results. One previous study [29], also performed sex-specific analyses and firstly revealed a sexual dimorphic response to circulating irisin levels. Whereas in



men, a negative association between exercise and circulating irisin levels was found, a positive association became apparent among women. These findings support our results regarding exercise parameters in men and women. The authors suggest differences in transcription levels of FND5, body composition or sexual hormones as possible explanations [29]. However, in the present study population, no correlation between irisin levels and either anthropometric marker, including body-mass index or visceral and subcutaneous fat measured based on MRI, or sexual hormones including total testosterone, androstenedione or estradiol became apparent. Therefore, further studies are needed to elucidate the mechanism underlying the sex differences regarding the relationship between irisin levels and exercise capacity.

The majority of the above-mentioned studies examined the direct association between various types of exercise and irisin levels. One possible reason for the discrepancies between the previous studies and ours might be that the present study represents a cross-

sectional investigation of the association between physical performance measured by cardiopulmonary exercise testing and irisin levels and is therefore more likely to reflect the physical and training status when the exercise test was performed. Our study did not investigate the effects of exercise itself on irisin levels. Furthermore, the conflicting findings might be caused by different study settings which lead to different distributions of confounding factors such as age, body composition, cholesterol levels or fitness status. A recent study [26] has dealt with these confounding factors and clearly demonstrated that irisin levels were positively correlated with biceps circumference (as a marker of muscle mass herein), body-mass index, glucose ghrelin and insulin-like growth factor I levels and, on the other side, negatively correlated with age, insulin, cholesterol and adiponectin levels. In general, besides several influencing factors causing fluctuations in irisin levels, the origin of irisin is still not fully understood. A previous study [30] found that irisin is not only a myokine but

**Table 2 Association between irisin and CPET parameters depending on different adjustment sets**

	peakVO <sub>2</sub>		VO <sub>2</sub> @AT		Oxygen pulse		Maximum power output	
	β coefficient (Stderr)	p	β coefficient (Stderr)	p	β coefficient (Stderr)	p	β coefficient (Stderr)	p
<b>Whole population</b>								
<b>Men (n = 322)</b>								
adjusted for age, BMI, smoking	-97.43 (43.139)	0.02	-6.388 (26.278)	0.81	-0.463 (0.249)	0.06	-7.656 (3.258)	0.02
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol	-108.2 (43.752)	0.01	-11.48 (26.618)	0.67	-0.544 (0.252)	0.03	-8.434 (3.305)	0.01
<b>Women (n = 418)</b>								
adjusted for age, BMI, smoking	27.580 (23.166)	0.23	0.981 (13.347)	0.94	0.054 (0.149)	0.72	-1.296 (1.872)	0.49
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol	25.103 (23.337)	0.28	-0.805 (13.436)	0.95	0.021 (0.150)	0.89	-1.410 (1.887)	0.46
<b>Subpopulation of subjects with a maximal time-lag between blood sampling and pulmonary function testing of one month</b>								
<b>Men (n = 177)</b>								
adjusted for age, BMI, smoking	-96.07 (58.396)	0.10	4.926 (35.355)	0.89	-0.442 (0.335)	0.19	-8.720 (4.413)	0.05
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol	-116.9 (60.121)	0.05	2.569 (36.563)	0.94	-0.557 (0.342)	0.11	-9.979 (4.557)	0.03
<b>Women (n = 225)</b>								
adjusted for age, BMI, smoking	80.507 (27.836)	<.01	24.328 (18.694)	0.19	0.455 (0.177)	0.01	1.839 (2.302)	0.43
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol	80.805 (28.106)	<.01	22.367 (18.856)	0.24	0.446 (0.179)	0.01	1.775 (2.326)	0.45

BMI = body-mass index; peakVO<sub>2</sub> = highest 10-second average of VO<sub>2</sub> in the last minute of exercise; VO<sub>2</sub>@AT = VO<sub>2</sub> at anaerobic threshold. All models were further adjusted for time between core examination and pulmonary function testing and month of core examination.

also an adipokine and other studies [6,26] detected irisin in a great variety of tissues ranging from pericardium, rectum and heart to kidney, liver, lung and adipose tissue. Thus it is very questionable if irisin is actually mainly secreted by muscle tissue or just accidentally secreted in this tissue in response to exercise. Therefore, further investigations are needed to clarify the potential physiological association between irisin and exercise as well as obesity.

Additionally, we came across something unexpected and new in the history of irisin: an annual rhythm of irisin levels. According to the collected data irisin levels show two peaks, one during the summer and the other during the winter period. A possible explanation might be a variation in physical activity during the year. In summer months, people are more likely to be active outside, to do sports and to walk around. This might lead to an exercise-related increase in irisin levels. During the winter period, to compensate for lower outside temperature the overall exercise rate might be higher related to the rise in energy expenditure and shivering-linked thermogenesis. Another speculative reason might be the higher percentage of adipose tissue present during the winter months. Currently irisin has been found to be an adipokine which is secreted by white adipose tissue and especially by subcutaneous adipose tissue [30].

A further reason might be heterogeneity between subjects examined in different months. Even if we found no significance differences for general characteristics e.g. age, smoking, body-mass index, glucose levels or proportion of hypertension (data not shown) between subjects examined in different months, further studies are needed to clarify the detected annual rhythm of irisin levels.

The strengths of the present study are the large population of over 700 participants and the accurate assessment of confounding factors and exercise parameters based on standardised protocols. Furthermore, we firstly investigated the possible sex-specific difference in the association between exercise and irisin levels in a large-scale population sample. However, there are also limitations. With respect to the interpretation of the results, there might be a problem regarding linking the oxygen uptake directly to the exercise taken. We assume that our method to assess physical capacity might have a large influence on the results. Furthermore, factors like menopause status which might influence the muscle status of women were not considered due to the lack of reliable data.

## Conclusion

In conclusion, we detected inverse associations between irisin and exercise capacity assessed by peakVO<sub>2</sub> and



maximum power output among men and a trend toward a positive relationship between irisin and peakVO<sub>2</sub> among women, suggesting possible sex differences.

### Availability of supporting data

SHIP data are publically available for scientific and quality control purposes. Data usage can be applied for via [www.community-medicine.de](http://www.community-medicine.de).

### Additional file

**Additional file 1: Table S1.** Association between irisin and CPET parameters additionally adjusted for self-reported physical activity. **Table S2.** Association between irisin and CPET parameters depending on different adjustment sets in a COPD free population.

### Abbreviations

ANOVA: Analysis of variance; ATC: Anatomical therapeutic chemical; CI: Confidence interval; CPET: Cardiopulmonary exercise testing; ECG: Electrocardiography; FNDC5: Fibronectin type III domain-containing protein 5; peakVO<sub>2</sub>: Peak oxygen uptake; PGC-1 $\alpha$ : Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  co-activator-1 $\alpha$ ; SHIP-TREND: Study of health in West Pomerania trend; VO<sub>2</sub>@AT: Oxygen uptake at anaerobic threshold; WC: Waist circumference.

### Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

### Authors' contributions

NK, SG and NF contributed to the study design and concept for the data analysis. MN and HW organized the sample collection and data preparation. RE, TS, TB, BS, SBF and SG organized and performed the cardiopulmonary exercise testing. NK and NF performed statistical analyses, drafted the manuscript and wrote the final version together with all other co-authors. RE, TS, TB, BS, SBF, HW and SG contributed to the interpretation of the results and the discussion. All authors read and approved the final manuscript.

### Acknowledgement

This work was funded by grants from the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF, Grants 01ZZ0403, 01ZZ0103, 01GI0883), the Ministry for Education, Research and Cultural Affairs as well as the Ministry of Social Affairs of the Federal State of Mecklenburg-West Pomerania. This work is also part of the research project Greifswald Approach to Individualized Medicine (GANI\_MED). The GANI\_MED consortium is funded by the Federal Ministry of Education and Research and the Ministry of Cultural Affairs of the Federal State of Mecklenburg – West Pomerania (03IS2061A).

### Author details

<sup>1</sup>Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Straße, 17475 Greifswald, Germany. <sup>2</sup>Department of Internal Medicine B – Cardiology, Intensive Care, Pulmonary Medicine and Infectious Diseases, University Medicine Greifswald, Ferdinand-Sauerbruch-Straße, 17475 Greifswald, Germany. <sup>3</sup>DZHK (German Centre for Cardiovascular Research), Greifswald partner site, Greifswald, Germany.

Received: 16 October 2014 Accepted: 15 April 2015

Published online: 22 April 2015

### References

1. Iizuka K, Machida T, Hirafuji M. Skeletal muscle is an endocrine organ. *J Pharmacol Sci*. 2014;125(2):125–31.
2. Pedersen BK. Muscle as a secretory organ. *Compr Physiol*. 2013;3(3):1337–62.
3. Pedersen L, Hojman P. Muscle-to-organ cross talk mediated by myokines. *Adipocyte*. 2012;1(3):164–7.
4. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463–8.
5. Erickson HP. Irisin and FNDC5 in retrospect: an exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte*. 2013;2(4):289–93.
6. Aydin S. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. *Peptides*. 2014;56C:94–110.
7. Elbelt U, Hofmann T, Stengel A. Irisin: what promise does it hold? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2013;16(5):541–7.
8. Hofmann T, Elbelt U, Stengel A. Irisin as a muscle-derived hormone stimulating thermogenesis - a critical update. *Peptides*. 2014;54C:89–100.
9. Kuhn E, Binart N, Lombes M. [Brown, white, beige: the color of fat and new therapeutic perspectives for obesity...]. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2012;73 Suppl 1:52–8.
10. Novelle MG, Contreras C, Romero-Pico A, Lopez M, Dieguez C. Irisin, two years later. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:746281.
11. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol*. 2012;8(8):457–65.
12. Norheim F, Langley TM, Hjorth M, Holen T, Kiehlund A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 $\alpha$ , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J*. 2014;281(3):739–49.
13. Kraemer RR, Shockett P, Webb ND, Shah U, Castracane VD. A transient elevated irisin blood concentration in response to prolonged, moderate aerobic exercise in young men and women. *Horm Metab Res*. 2014;46(2):150–4.
14. Kurdiowa T, Balaz M, Vician M, Maderova D, Vlcek M, Valkovic L, et al. Effects of obesity, diabetes and exercise on Fndc5 gene expression and irisin release in human skeletal muscle and adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *J Physiol*. 2014;592(Pt 5):1091–107.
15. Moraes C, Leal VO, Marinho SM, Barroso SG, Rocha GS, Boaventura GT, et al. Resistance exercise training does not affect plasma irisin levels of hemodialysis patients. *Horm Metab Res*. 2013;45(12):900–4.
16. Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, Ahtiainen JP, Horttanainen M, Pollanen E, et al. Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *J Physiol*. 2013;591(Pt 21):5393–400.
17. Hecksteden A, Wegmann M, Steffen A, Kraushaar J, Morsch A, Ruppenthal S, et al. Irisin and exercise training in humans - results from a randomized controlled training trial. *BMC Med*. 2013;11:235.
18. Volzke H, Alte D, Schmidt CO, Radke D, Lohrbein R, Friedrich N, et al. Cohort profile: the study of health in Pomerania. *Int J Epidemiol*. 2011;40(2):294–307.
19. Jones NL, Makrides L, Hitchcock C, Chypchar T, McCartney N. Normal standards for an incremental progressive cycle ergometer test. *Am Rev Respir Dis*. 1985;131(5):700–8.
20. Koch B, Schaper C, Ittermann T, Spielhagen T, Dorr M, Volzke H, et al. Reference values for cardiopulmonary exercise testing in healthy volunteers: the SHIP study. *Eur Respir J*. 2009;33(2):389–97.
21. American Thoracic Society, American College of Chest Physicians. ATS/ACCP Statement on cardiopulmonary exercise testing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;167(2):211–77.
22. Palange P, Ward SA, Carlsen KH, Casaburi R, Gallagher CG, Gosselink R, et al. Recommendations on the use of exercise testing in clinical practice. *Eur Respir J*. 2007;29(1):185–209.
23. Wasserman K. Principles of exercise testing and interpretation: including pathophysiology and clinical applications. 4th ed. Philadelphia, Pa, London: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
24. Meyer K, Westbrook S, Schwaibold M, Hajric R, Peters K, Roskamm H. Short-term reproducibility of cardiopulmonary measurements during exercise testing in patients with severe chronic heart failure. *Am Heart J*. 1997;134(1):20–6.
25. Stone C, Koo CY. Additive splines in statistics. Washington, DC: American Statistical Association; 1985.
26. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism*. 2012;61(12):1725–38.
27. Tanisawa K, Taniguchi H, Sun X, Ito T, Cao ZB, Sakamoto S, et al. Common single nucleotide polymorphisms in the FNDC5 gene are

- associated with glucose metabolism but do not affect serum irisin levels in Japanese men with low fitness levels. *Metabolism*. 2014;63(4):574–83.
28. Hofmann T, Elbelt U, Ahnis A, Kobelt P, Rose M, Stengel A. Irisin levels are not affected by physical activity in patients with anorexia nervosa. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014;4:202.
  29. Scalzo RL, Peltonen GL, Giordano GR, Binns SE, Klochak AL, Paris HL, et al. Regulators of human white adipose browning: evidence for sympathetic control and sexual dimorphic responses to sprint interval training. *PLoS One*. 2014;9(3):e90696.
  30. Roca-Rivada A, Castelao C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Belen Crujeiras A, et al. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS One*. 2013;8(4):e60563.

## Additional files

**Table S1.** Association between irisin and CPET parameters additionally adjusted for self-reported physical activity.

	peakVO <sub>2</sub>		VO <sub>2</sub> @AT		Oxygen pulse		maximum power output	
	β coefficient (Stderr)	p	β coefficient (Stderr)	p	β coefficient (Stderr)	p	β coefficient (Stderr)	p
<b>Whole population</b>								
<b>Men (n = 286)</b>								
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol, physical activity	-103.9 (43.225)	0.02	-9.679 (26.490)	0.72	-0.518 (0.248)	0.04	-8.077 (3.253)	0.01
<b>Women (n = 385)</b>								
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol, physical activity	17.081 (22.891)	0.46	-4.734 (13.267)	0.72	-0.021 (0.148)	0.88	-2.047 (1.852)	0.27
<b>Subpopulation of subjects which a time-lag between blood sample and pulmonary function testing under 1 month</b>								
<b>Men (n = 160)</b>								
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol, physical activity	-108.7 (59.216)	0.07	7.087 (36.147)	0.84	-0.506 (0.336)	0.13	-9.335 (4.482)	0.04
<b>Women (n = 204)</b>								
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol, physical activity	69.970 (27.758)	0.01	15.227 (18.637)	0.41	0.400 (0.179)	0.03	0.849 (2.293)	0.71

COPD = chronic obstructive pulmonary disease; BMI = body-mass index; peakVO<sub>2</sub> = highest 10-second average of VO<sub>2</sub> in the last minute of exercise; VO<sub>2</sub>@AT = VO<sub>2</sub> at anaerobic threshold. \*All models were further adjusted for time between core examination and pulmonary function testing and month of core examination.

**Table S2.** Association between irisin and CPET parameters depending on different adjustment sets in a COPD free population.

	peakVO <sub>2</sub>		VO <sub>2</sub> @AT		Oxygen pulse		maximum power output		
	β coefficient (Stderr)	p	β coefficient (Stderr)	p	β coefficient (Stderr)	p	β coefficient (Stderr)	p	
<b>Whole population</b>									
<b>Men (n = 286)</b>									
adjusted for age, BMI, smoking	-101.0 (47.941)	0.04	-15.07 (28.424)	0.60	-0.449 (0.271)	0.10	-7.639 (3.449)	0.03	
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol	-111.5 (48.541)	0.02	-18.09 (28.804)	0.53	-0.521 (0.274)	0.06	-8.389 (3.494)	0.02	
<b>Women (n = 385)</b>									
adjusted for age, BMI, smoking	23.357 (24.401)	0.34	-0.079 (14.074)	1.00	0.025 (0.156)	0.87	-1.034 (1.969)	0.60	
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol	19.541 (24.577)	0.43	-2.130 (14.182)	0.88	-0.015 (0.156)	0.92	-1.236 (1.986)	0.53	
<b>Subpopulation of subjects which a time-lag between blood sample and pulmonary function testing under 1 month</b>									
<b>Men (n = 160)</b>									
adjusted for age, BMI, smoking	-130.2 (65.613)	0.05	6.661 (40.302)	0.87	-0.535 (0.374)	0.16	-9.828 (4.835)	0.04	
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol	-103.1 (63.885)	0.11	7.871 (38.879)	0.84	-0.387 (0.367)	0.29	-8.073 (4.693)	0.09	
<b>Women (n = 204)</b>									
adjusted for age, BMI, smoking	73.152 (29.707)	0.01	20.547 (20.367)	0.31	0.403 (0.189)	0.03	1.689 (2.473)	0.50	
adjusted for age, BMI, smoking, glucose, total cholesterol	72.904 (29.450)	0.01	22.428 (20.183)	0.27	0.414 (0.187)	0.03	1.800 (2.449)	0.46	

COPD = chronic obstructive pulmonary disease; BMI = body-mass index; peakVO<sub>2</sub> = highest 10-second average of VO<sub>2</sub> in the last minute of exercise; VO<sub>2</sub>@AT = VO<sub>2</sub> at anaerobic threshold. \*All models were further adjusted for time between core examination and pulmonary function testing and month of core examination.

## 7.2. Kurzfassung

Es wird vermutet, dass Irisin, ein Muskelenzym, das im Jahre 2012 entdeckt wurde, vom Muskel als Antwort auf Muskelarbeit ausgeschüttet wird und im Körper an der Regulation des Energiestoffwechsels beteiligt ist. Da jedoch bisherige Studien keine einheitlichen Ergebnisse liefern konnten, war das Ziel dieser Arbeit die potentielle Beziehung zwischen Irisin und Arbeitskapazität in einer populationsbasierten Studie zu untersuchen.

Aus der populationsbasierten SHIP-Trend Kohorte (Study of Health in Pomerania-Trend) wurden 334 Männer und 406 Frauen mit gemessenen Irisin-Spiegeln ausgewählt und ein standardisierter, durch Symptome limitierter, kardiopulmonaler Belastungstest durchgeführt. Die Arbeitskapazität wurde als Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Schwelle ( $VO_2@AT$ ), Spitzen Leistung ( $peak,VO_2$ ) und maximaler Ausgangskraft bei maximaler Anspannung, als auch Sauerstoff-Puls erfasst. Geschlechtsspezifische Varianzanalysen (ANOVA) und lineare Regressionsanalysen wurden berechnet und für Alter, BMI, Rauchstatus sowie Zeit zwischen der Grund- und CPET-Untersuchung adjustiert.

Bei den Männern in der Studienpopulation wurde eine inverse Beziehung zwischen Irisin-Spiegeln und der Arbeitskapazität anhand von Spitzen  $VO_2$  und maximaler Ausgangskraft ermittelt. Bei den Frauen hingegen wurde ein Trend in Richtung einer positiven Beziehung zwischen Irisin und Spitzen  $VO_2$  detektiert, wohingegen keiner der anderen Parameter eine signifikante Assoziation aufwies.

Basierend auf einer großen Studienpopulation haben unsere Ergebnisse die erwähnte Beziehung zwischen Muskelarbeit und Irisin nicht bestätigen können. Daher ist eine weitere Abklärung der Assoziation zwischen Irisin und Muskelarbeit insbesondere in Hinsicht auf geschlechterspezifische Unterschiede notwendig.