

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma de Barcelona

**PAPEL DE LA IRISINA EN LA FUNCIÓN
FÍSICA DE LOS PACIENTES CON
ARTROSIS DE RODILLA**

Tesis Doctoral presentada para optar al grado de Doctor

Doctorando:

Cristóbal Orellana Garrido

Tutor:

Dr. Jaume Almirall i Daly

Directores:

Dr. Jordi Gratacós i Masmitjà

Dr. Joan Calvet i Fontova

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina

2003



AGRADECIMIENTOS

Cuando comas brotes de bambú, recuerda a la persona que los plantó.

Proverbio chino

La gratitud se da cuando la memoria se almacena en el corazón y no en la mente.

Lionel Hampton

Muchos sabios están de acuerdo en que a menudo damos por hecho las cosas, y las personas, que más merecen nuestra gratitud. Bien está por lo tanto que dedique estas próximas líneas a reconocer y agradecer a todos aquellos que me han ayudado, directa e indirectamente, a lo largo de este camino.

Quisiera empezar por agradecer de forma póstuma a mis padres, por su amor, dedicación y confianza hacia mí en todo momento.

A mi esposa e hijos, víctimas colaterales por el tiempo que mi trabajo nos ha quitado durante ciertos periodos, pero cuya presencia me ha ayudado siempre para afrontar los momentos de duda o desilusión. Muy especialmente a mi mujer, Carmen, sin cuyo paciencia, confianza, estímulo y apoyo incondicional es seguro que este trabajo no hubiera sido posible.

Gracias también a mis directores de tesis, Jordi y Joan, por su guía profesional en el desarrollo de este trabajo y por su constante motivación para que llegara a buen puerto. Hago extensible este agradecimiento al Servei de Reumatologia del Hospital Parc Taulí, que me ha ayudado con los medios necesarios para llevar a cabo el trabajo y a Toni Berenguer, que se ha encargado del análisis estadístico, y a Néstor Albiñana y su equipo por el procesamiento de las muestras.

Mi agradamiento a la Dra Marta Larrosa, por haber confiado en mí para formar parte del Servei de Reumatologia del Hospital Parc Taulí y por su estímulo para retomar el escribir una tesis doctoral, tras años de abandono. Y también al Dr. Raimon Sanmartí, maestro en el sentido más clásico del término, y que con frecuencia cuando nos encontrábamos me preguntaba con sincero interés “¿cómo llevas la tesis?” (¡aquí está por fin!).

No estaría completo este apartado si no incluyera también a aquellos amigos, profesores y colegas de profesión que me han ayudado de distintas maneras a lo largo de mi vida.



ABREVIATURAS

ACR, *American College of Rheumatology*

AINE, antiinflamatorio no esteroideo

Akt, proteína kinasa B

AMPK, proteína cinasa activada por AMP (*AMP-activated protein kinase*)

ATP, *adult treatment panel*

DLP, dislipemia

ECO, ecografía

ELISA, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (*enzyme-linked immunosorbent assay*)

EVA, escala analógico visual

FNDC5, proteína de transmembrana fibronectina tipo III que contiene la proteína 5 circulante

GDF-8, factor de diferenciación del crecimiento-8 (*growth differentiation-8*)

HbA1c, hemoglobina glicosilada

HDL, lipoproteína de alta densidad (*high density lipoprotein*)

HOMA-IR, modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina (hK)

hs-PCR, proteína C-reactiva de alta sensibilidad (*high sensitivity C-reactive protein*)

IL-10, interleuquina-10

IL-1 β , interleuquina 1 β

IL-6, interleuquina 6

IMC, índice de masa corporal

JNK, cinasas c-Jun N-terminal (*c-Jun N-terminal kinase*)

KL, Kellgren-Lawrence

LDL, lipoproteína de baja densidad (*low density lipoprotein*)

MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos-1 (*Monocyte chemoattractant protein-1*)

mRNA, RNA mensajero

MyD88, respuesta primaria de diferenciación mielóide-88 (*myeloid differentiation primary response 88*)

NF κ B, factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*)

PCR, reacción en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction*)

PGC-1 α , cofactor de transcripción 1-alfa (*transcriptional co-activator-1 alpha*)

PI3k, fosfoinositol 3-cinasa

PPAR γ , receptor γ activado por el proliferador de peroxisomas (*peroxisome proliferator activated receptor gamma*)

TLR-4, receptor tipo Toll 4 (*Toll-like receptor-4*)

TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa (*tumor necrosis alpha*)

UCP-1, proteína desacoplante-1 (*coupling protein-1*)

VLDL, lipoproteína de muy baja densidad (*very low density lipoprotein*)



INDICE

INDICE.....	1
RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1.1 Funciones principales de la irisina y mecanismo de acción.....	11
1.1.2 Detección de la irisina.....	12
1.1.3 Factores que influyen en la secreción de la irisina.....	12
1.2 IRISINA Y EJERCICIO.....	14
1.3 IRISINA Y ALTERACIONES DEL METABOLISMO.....	17
1.3.1 Irisina y obesidad.....	17
1.3.2 Irisina y metabolismo de la glucosa.....	18
1.3.3 Irisina y metabolismo lipídico.....	20
1.4 IRISINA E INFLAMACIÓN.....	22
1.5 IRISINA Y ARTROSIS.....	23
2 JUSTIFICACIÓN.....	28
3 HIPÓTESIS.....	30
4 OBJETIVOS.....	32
5 MATERIAL Y MÉTODOS.....	34
5.1 Diseño y pacientes del estudio.....	35
5.2 Valoraciones.....	36
5.3 Análisis estadístico.....	37
6 RESULTADOS.....	39
6.1 Descripción de la cohorte.....	40
6.2 Relación de la irisina con la gravedad clínica y radiológica.....	45
6.3 Relación de la irisina con parámetros metabólicos.....	52
6.4 Relación de la irisina con parámetros inflamatorios.....	59

6.5	Relación de la irisina con las adipocitoquinas.....	59
6.6	Relación de la irisina con el ejercicio.....	66
7	DISCUSIÓN.....	79
7.1	Irisina y severidad clínica.....	81
7.2	Irisina y severidad radiológica.....	84
7.3	Irisina, obesidad y alteraciones metabólicas.....	87
7.4	Irisina y parámetros inflamatorios.....	91
7.5	Irisina y adipocitoquinas.....	95
7.6	Irisina y grado de ejercicio.....	99
8	CONCLUSIONES.....	104
9	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	106
10	BIBLIOGRAFÍA.....	108

RESUMEN

RESUMEN

Introducción: la irisina es una mioquina secretada sobre todo por el músculo esquelético en respuesta al ejercicio, y en menor medida también por el tejido adiposo. Estudios recientes han demostrado que la irisina tiene funciones en el metabolismo del cartílago. Sin embargo, la influencia de la irisina en la gravedad severidad clínica y la función física de los pacientes con artritis no ha sido estudiada hasta la fecha.

Hipótesis: La irisina se relaciona con la gravedad clínica y radiológica y con marcadores de inflamación en pacientes con artrosis de rodilla con componente inflamatorio.

Objetivo: estudiar la relación entre los niveles sinoviales y plasmáticos de irisina con la severidad clínica y radiológica, las alteraciones del metabolismo y adipocitoquinas, la inflamación y el ejercicio en pacientes con artrosis de rodilla con derrame articular persistente.

Métodos: estudio transversal con inclusión sistemática de 115 mujeres con artrosis sintomática de rodilla con derrame articular significativo. Se recogieron variables antropométricas, duración de la enfermedad y parámetros metabólicos y se valoró la severidad clínica (índice de Lequesne) y radiológica (escala de Kellgren-Lawrence) y el nivel de ejercicio. Se midieron los niveles en líquido sinovial y plasma de irisina, TNF- α , IL-6 y adipocitoquinas mediante ELISA.

Resultados: Se incluyeron 115 mujeres) (edad media 68.8 ± 11.1 a, duración de la enfermedad 50 ± 73 m). La mayoría de pacientes presentaban grados KL 2-3 (83.4%). El IMC medio fue de 30.5 ± 5.6 kg/m². La puntuación media del índice de Lequesne fue 14 ± 5 . Un 30% de los pacientes practicaban ejercicio regularmente, un 24% de forma ocasional y el 46% no practicaban ejercicio.

En el análisis univariante se observe una correlación significativa entre los niveles sinoviales ($r= 0.26$, $p < 0.01$) y plasmáticos ($r=0.21$, $p < 0.05$) de irisina con la severidad y clínica y funcional medida por el índice de Lequesne. Los niveles sinoviales y plasmáticos de irisina mostraron una asociación significativa con la obesidad y medidas de adiposidad. Los niveles de hs-PCR en líquido sinovial fue el único parámetro inflamatorio que se asoció a los niveles de irisina y plasma ($p < 0.05$), especialmente en pacientes con enfermedad radiológicamente más avanzada. Los niveles de irisina, tanto articulares como plasmáticos, se asociaron claramente con obesidad ($p < 0.001$) y con las adipocitoquinas proinflamatorias leptina ($p < 0.001$) y resistina ($p < 0.05$), así como la irisina en plasma con

los niveles plasmáticos de las adipocitoquinas antiinflamatorias adiponectina y omentina ($p < 0.05$). Tanto la irisina en líquido sinovial como la plasmática mostraron una relación inversa con el nivel de ejercicio ($p < 0.05$).

En el análisis multivariante la severidad de afectación radiológica y el nivel de ejercicio fueron las únicas variables relacionadas con la severidad clínica ($p < 0.05$); sin embargo, los niveles de irisina en líquido sinovial (pero no en plasma) sí mostró asociación con la severidad clínica cuando no se incluyó la obesidad en el modelo ($p < 0.05$), sugiriendo que el efecto de la irisina está relacionado con la obesidad. La asociación entre irisina articular y obesidad y síndrome metabólico ($p < 0.05$), leptina ($p < 0.001$) y resistina ($p < 0.05$) se mantuvo en el análisis multivariante. Por último, la irisina en líquido sinovial y plasma mostraron una asociación negativa con el nivel de ejercicio en pacientes con artrosis de rodilla, aunque la obesidad fue la única variable asociada con el nivel de ejercicio en el análisis multivariante.

Conclusiones: la relación entre irisina con la severidad clínica en mujeres con artrosis de rodilla estaba básicamente asociada a la obesidad en nuestra muestra de pacientes. Los niveles de irisina en líquido sinovial se asociaron con los niveles articulares de las adipocitoquinas proinflamatorias leptina y resistina. La irisina, tanto articular como plasmática, mostró una asociación negativa con los niveles de ejercicio en los pacientes con artrosis de rodilla, pero solo la obesidad mostró asociación significativa con los niveles de actividad física.

ABSTRACT

Introduction: Irisin is a myokine mainly secreted by skeletal muscle in relation to exercise, and to a lesser degree by adipocytes. Recent research has shown that irisin could play a role in cartilage metabolism. However, the influence of irisin on the clinical severity and physical function of patients with osteoarthritis has not been study to date.

Hipotesis: Irisin is related to clinical and radiological severity and markers of inflammation in patients with knee osteoarthritis with inflammatory features.

Objective: To study the relationship between synovial and plasma irisin levels with clinical and radiological severity, metabolic disorders and adipocytokines, inflammation and exercise in patients with knee OA (KOA) and persisting joint effusion.

Methods: Cross-sectional study with systematic inclusion of 115 female patients with symptomatic KOA showing significant joint effusion. Anthropometric characteristics, KOA symptoms duration, and metabolic features were recorded, and clinical (Lequesne index) and radiological (Kellgren-Lawrence (KL) scale) severity as well as physical exercise were assessed for each patient. Plasma and synovial irisin, TNF- α and IL-6 and adipocytokines were measured by ELISA.

Results: One hundred and fifteen women were included (mean age 68.8 ± 11.1 y, disease duration 50 ± 73 mo). Most patients were KL grades 2-3 (83.4%). The median Lequesne index score was 14 ± 5 . Mean BMI was 30.5 ± 5.6 kg/m². Regular exercise was performed by 30% of patients, occasional exercise by 24% and 46% did not exercise.

In the univariate analysis there was a significant correlation between synovial ($r = 0.26$, $p < 0.01$) and plasma ($r = 0.21$, $p < 0.05$) irisin with clinical and functional severity as measured by the Lequesne index. Synovial and plasma irisin showed positive and mainly statistically significant associations with obesity and adiposity measures. Synovial hs-PCR was the only inflammatory feature associated with synovial and plasma irisin levels ($p < 0.05$), especially in patients with more severe radiological disease. Synovial and plasma levels of irisin were clearly associated with obesity and with the inflammatory adipocytokines leptin ($p < 0.001$) and resistin ($p < 0.05$) in synovial fluid, and in plasma showed a negative association with the antiinflammatory adipocytokines adiponectin and omentin in plasma ($p < 0.05$). Both synovial and plasma irisin levels showed an inverse relationship with the level of exercise ($p < 0.05$).

In the multivariate analysis, radiologic grade and level of exercise were the only variables

related to clinical severity ($p < 0.05$); however, synovial (but not plasma) irisin was related to clinical severity when obesity was not included in the model ($p < 0.05$), suggesting that the role of irisin is linked to obesity. The relationship between synovial irisin and obesity and metabolic syndrome ($p < 0.05$), leptin ($p < 0.001$) and resistin ($p < 0.05$) was maintained. Finally, synovial and plasma irisin showed a negative association with exercise level in patients with knee osteoarthritis, but obesity was the only significant factor associated with exercise level in the multivariate analysis.

Conclusions: The relationship between irisin and clinical severity in women with knee osteoarthritis was mainly associated with obesity in our sample of patients. Synovial irisin levels were associated with the synovial proinflammatory adipocytokines leptin and resistin. Synovial and plasma irisin showed a negative association with exercise level in patients with knee osteoarthritis. Obesity was the only significant factor associated with exercise level.



INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La irisina recibe su nombre por Iris, la diosa griega de pies rápidos que transmitía información entre los dioses del Olimpo; fue su descubridor, Böstrom(1), quien le dio este nombre por su función como mensajero de la señal endocrina del músculo al tejido adiposo.

La irisina se considera una mioquina porque inicialmente se observó que su secreción se producía fundamentalmente a nivel de músculo esquelético, siendo el ejercicio el estímulo más importante para su síntesis. Sin embargo, esta molécula ha ido generando un interés mayor con el tiempo al evidenciar su papel en el metabolismo, especialmente su relación con la obesidad y en la homeostasis glucémica y lipídica, o en su influencia sobre el tejido endotelial(2) y el aparato cardiovascular(3), entre otras funciones.

La irisina es una proteína de 112 aminoácidos que deriva de la proteólisis de la proteína de transmembrana fibronectina tipo III que contiene la proteína 5 circulante (FNDC5), y es codificada por el gen Fndc5, abundantemente expresada en músculo esquelético y cuya síntesis se eleva en los músculos en respuesta al ejercicio(1, 4, 5) u otros estímulos como el frío(6). El gen Fndc5 se expresa fundamentalmente en el tejido muscular, y en menor medida en otros tejidos, como el tejido adiposo(7).

La síntesis de FNDC5 es estimulada por el cofactor de transcripción 1 alfa (PGC-1 α) del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR γ), cuya expresión es inducida a su vez por la actividad física(8, 9, 10) y es un mediador en los eventos moleculares inducidos a partir del ejercicio, como el metabolismo oxidativo(11).

También se ha detectado menores cantidades de irisina en tejido adiposo y en menor medida en otros tejidos como nervio óptico y neuronas, músculo cardíaco, glándulas sebáceas subcutáneas, glándulas salivares, lengua,, hígado, estómago, bazo, recto, ovarios o testículos(12). Se ha observado que la irisina juega un importante papel en diversos procesos fisiológicos y patológicos, como la neurogénesis del hipocampo, el envejecimiento(13), diversas alteraciones metabólicas.(14) y otras enfermedades

crónicas(15).

1.1.1. Funciones principales de la irisina y mecanismo de acción

Inicialmente se propuso a la irisina como una proteína de acción hormonal que mediaba en los efectos positivos del ejercicio sobre el metabolismo.(1). El otro efecto principal sería contribuir en la interacción entre el tejido muscular y el adiposo, fundamentalmente produciendo un cambio fenotípico en los adipocitos. En este sentido, la irisina parece jugar un papel pleiotrópico sobre el metabolismo(16), actuando tanto mediante señales autocrinas como endocrinas.(17).

La principal diana endocrina de la irisina son los adipocitos que residen en la grasa blanca(18), siendo uno de los principales reguladores de estos. La irisina, actuando sobre un receptor hasta el momento desconocido, induce el proceso de “amarronamiento” de la grasa blanca a grasa parda, o a nivel celular en el cambio de adipocitos “blancos” a adipocitos “pardos”, cuyas propiedades son diferentes(19, 20, 21). Dicho proceso comporta un aumento de la termogénesis(22) y tiene un efecto positivo sobre la homeostasis del metabolismo de la glucosa(4, 7, 23, 24, 25). Este cambio en las cualidades del tejido adiposo se ha observado que produce efectos “anti-obesidad”, fundamentalmente pérdida de peso(20), así como un efecto “anti-diabetes”, con mejoría de la tolerancia a la glucosa(26). Dicho efecto se produce mediante un incremento en el consumo de oxígeno y pérdida de calor y sería el mecanismo por el que el ejercicio produciría pérdida de peso(27, 28, 29), favoreciendo además la sensibilidad a la insulina, mejorando la tolerancia a la glucosa y a la vez disminuyendo la secreción de insulina.(30, 31). Estos efectos han llevado a considerar la irisina como una potencial diana terapéutica para alteraciones metabólicas.

La irisina también interviene en procesos antiinflamatorios(32) y parece presentar actividad antioxidante(33), mejorando la aterosclerosis(34) o la oxidación de ácidos grasos (35). También parece presentar un efecto antiapoptosis(36, 37) y existen

estudios que relacionan la irisina con la longitud de la telomerasa, que es un marcador genético de envejecimiento bien establecido, estando los niveles de irisina correlacionados con la edad del individuo y pudiendo predecir la longitud del telómero(13).

1.1.2. Detección de la irisina

Actualmente la medición de irisina se lleva a cabo habitualmente mediante ELISA, o bien por detección de la expresión de Fndc5 mRNA, que son capaces de detectar de forma precisa en humano tanto niveles de irisina endógena como exógena(24, 38). Se ha observado una cierta variabilidad según los estudios en cuanto a los niveles detectados, proviniendo probablemente dichas diferencias por la variedad de epítomos de irisina contra los que se dirigen los diferentes kits según el fabricante, lo cual aconseja cierta cautela cuando se comparen mediciones realizadas con diferentes kits(38). Otras metodologías que se pueden usar para su detección son el análisis Western blot (menos fiable) o también PCR cuantitativa en tiempo real.

1.1.3. Factores que influyen en la secreción de irisina

Los principales predictores de los niveles de irisina en plasma son el ejercicio, la masa muscular(24) y la edad.

La evidencia actual indica que la expresión de mRNA de FDNC5 aumenta tras el ejercicio y que el ejercicio incrementa, en general, la concentración de irisina circulante en adultos(1, 24, 39).

En cuanto a la edad, se ha observado que en general se correlaciona inversamente con esta(24, 40, 41, 42), probablemente traduciendo una mayor masa o un mejor estado muscular en sujetos jóvenes. Sin embargo, existen estudios en que no se han evidenciado diferencias(43).

En relación al género, aunque no se ha observado diferencias por género en cuanto a

la expresión de FNDC5 en adipocitos en adultos sanos de edad media(7) en general los niveles de irisina circulante son más altos en mujeres que en hombres(44, 45), y especialmente en mujeres obesas(45, 46, 47). Sin embargo, en el caso de sujetos obesos algún estudio no ha evidenciado niveles distintos según sexo(7). Para explicar esta diferencia algunos autores han postulado un posible mecanismo relacionado con la diferente distribución corporal del tejido adiposo entre hombres y mujeres(47). Otros han propuesto que el estradiol, que es una hormona con acción anabólica, favorecería un incremento en la masa muscular que se ha asociado positivamente con la irisina en mujeres de edad media de forma independiente al IMC. Sin embargo, no se encontró asociación en hombres con los niveles de testosterona(24).

Un factor que también parece influir de forma determinante en la secreción de irisina es el perfil antropométrico del individuo. La mayor parte de estudios observan niveles superiores de irisina en sujetos obesos(7, 23, 24, 48, 49). En un estudio llevado a cabo en España, Pardo et al(50) detectaron niveles más altos de irisina en obesos y con una correlación positiva con el porcentaje de masa grasa y negativa con el porcentaje de masa libre de grasa, proponiendo estos autores que el tejido adiposo sería un factor importante en la secreción de irisina. En este sentido, otros estudios no solo muestran relación positiva con el IMC, sino también con medidas antropométricas relacionadas con obesidad central o con adiposidad como masa grasa, circunferencia de cintura y relación cintura/cadera(48, 49, 51, 52). Polyzos et al han especulado que la fuente principal de irisina sería el músculo esquelético bajo condiciones metabólicas normales, pero el tejido adiposo puede también secretarla y así determinar parcialmente los niveles de irisina en obesos(25). Sin embargo, existe algún estudio en que no se ha evidenciado relación con la obesidad(53) e incluso en varios estudios la relación fue negativa(25, 54, 55). Estas discrepancias podrían ser explicadas por las diferentes características de las poblaciones estudiadas a nivel étnico/genético, su composición corporal y el estatus metabólico y comorbilidades de los sujetos evaluados.

El otro aspecto relevante desde un punto de vista antropométrico en el caso de la irisina

es la masa muscular. Se ha observado correlación positiva entre los niveles circulantes de irisina, especialmente en individuos sanos y deportistas, tal como es lógico debido a la secreción por parte del músculo en relación con el ejercicio. En la misma línea se ha observado que la pérdida de masa muscular asociada a la edad se asocia a niveles bajos de irisina. Huh et al confirmaron que la correlación positiva de los niveles de irisina con la circunferencia de bíceps persistía tras ajustes por edad, estatus menopáusico, tabaquismo y masa libre de grasa, lo cual indica que la masa muscular es un importante predictor de los niveles de irisina circulante(24). De hecho, un nivel bajo de irisina parece predecir la pérdida de masa muscular y la sarcopenia(56).

En cuanto a la secreción de irisina en condiciones basales (no asociadas a ejercicio), esta parece seguir un cierto ritmo circadiano, siendo más baja en la madrugada y alcanzando un pico sobre las 21h(57). No obstante, las concentraciones de irisina parecen ser más variables durante el día en pacientes obesos comparado con aquellos con normopeso(52).

Otros factores que se ha demostrado que también influyen en la secreción de irisina son la exposición al frío(6, 58), los niveles de miostatina(59) o GDF-8 (*growth differentiation factor 8*), mioquina que actúa sobre el músculo esquelético limitando su crecimiento, los niveles de leptina(60) y otras adipocitoquinas, así como ciertas citoquinas proinflamatorias como TNF α o IL-1 β (61).

La relación con el ejercicio, la obesidad y otras alteraciones metabólicas se discuten a continuación con más profundidad.

1.2. IRISINA Y EJERCICIO

La relación entre la secreción de irisina y la respuesta al ejercicio depende de factores tanto intrínsecos al ejercicio(intensidad, duración o tipo de ejercicio) como extrínsecos (edad, estatus nutricional, composición corporal)(62). Teniendo en cuenta que las

mioquinas, como la irisina, son consideradas mediadores entre el ejercicio y sus efectos beneficiosos sobre la salud, se podría asumir que el ejercicio regular y la capacidad física se tienen que relacionar con los niveles basales de irisina en humanos sanos. Sin embargo, existen discrepancias entre los distintos estudios centrados en el tema, debido en gran parte a su elevada heterogeneidad tal como evidencia Hoffman en una revisión sobre el tema(22).

Existe un acuerdo generalizado respecto a que la irisina se incrementa en plasma tras un ejercicio agudo(6, 24, 52, 57, 63, 64, 65, 66, 67, 68). No obstante, algunos autores no encuentran una relación tan clara(24, 69, 70, 71). El ejercicio regular no solo eleva los niveles de irisina, sino que inhibe la miostatina, una mioquina que inhibe el crecimiento muscular(66).

Sin embargo, no está claro el efecto del ejercicio crónico sobre la producción de irisina. En la mayor parte de estudios el ejercicio/entrenamiento crónico parece no relacionarse con un cambio en los niveles de irisina o se asocian a niveles basales menores(24, 63, 72, 73). En este sentido, Norheim et al(63)observó que la irisina aumentó en hombres sedentarios tras ejercicio de resistencia agudo, pero que los niveles disminuyeron tras 12 semanas de entrenamiento aeróbico y fuerza. Este falta de asociación de irisina con ejercicio crónico se ha observado en un estudio aleatorizado y controlado(70) así como en una revisión sistemática(74). Este hecho se podría explicar entendiendo que la irisina presenta un patrón de secreción inducida por stress metabólico que aumenta de forma transitoria en respuesta a la demanda energética celular(75), tal como ocurre con otras mioquinas como IL-6(76). No obstante, existe algún estudio en el que sí se detecta un incremento en relación a ejercicio crónico(77) con la práctica de marcha nórdica(77, 78) y con ejercicios de resistencia(79).

Aparte de la realización de ejercicio agudo o de forma regular/crónica, también la intensidad del ejercicio se asocia de forma directa a la secreción de irisina(64). El ejercicio de alta intensidad, como el sprint intermitente, causa una caída en el contenido de ATP en músculo que actúa como estímulo que produce un incremento pronunciado

de irisina; por el contrario, un ejercicio repetido pero de baja intensidad no parece asociarse ni a cambios en el ATP muscular o de irisina en plasma(24). En una revisión de 2017 por Fatouros(80) se concluye que aparentemente todos los tipos y protocolos de ejercicio agudo, sean de velocidad, fuerza, aeróbico o por intervalos representan un potente estímulo para la secreción de irisina si tienen la duración e intensidad adecuados. En cuanto a las características del ejercicio, Huh et al(65) observaron que los ejercicios de resistencia se asociaron a un mayor incremento en los niveles de irisina que los de tipo aeróbico.

El buen estado de forma basal (que refleja en gran parte el estado de la masa muscular) parece relacionarse de forma directa con la secreción de irisina independientemente de la edad(66). Sin embargo, Biniaminov et al(81) estudiando los niveles basales de irisina no encontraron relación entre estos con diferentes parámetros de medición de la actividad física ni con el estado de forma en sujetos sanos, lo cual ha sido refrendado en otros estudios(67, 82), incluso en distintos grupos de actividad física (baja, media o alta)(57).

En cuanto a los factores extrínsecos, los factores antropométricos son los que más parecen influir en la respuesta secretora de irisina por el ejercicio.

En relación a la secreción de irisina estimulada por el ejercicio en pacientes con sobrepeso se ha comprobado que un programa de ejercicio puede producir un ligero incremento en los niveles de irisina, y que son los individuos con mayores niveles los que mejoran también más en los parámetros metabólicos(83). En obesidad, Pardo et al estudiaron pacientes con anorexia, normopeso y obesidad y encontraron que los niveles de irisina correlacionaban directamente con el gasto energético basal, mayor en obesos, y de forma negativa con la actividad física, concluyendo que el porcentaje de grasa era el factor que en mayor medida contribuía a la variabilidad de los niveles de irisina(50), lo cual se ha visto confirmado en otros estudios(84). En cuanto al tipo de ejercicio, en obesos parece que el ejercicio de resistencia es el más eficaz en estimular la secreción de irisina(79, 85), y no lo serían tanto el ejercicio de fuerza o de tipo aeróbico(86, 87).

Finalmente, y como punto a considerar dada la variabilidad de los resultados e incluso las conclusiones a veces contradictorias de los diferentes estudios, es que la inmensa mayoría de los estudios miden los niveles circulantes de irisina. Sin embargo, la irisina presenta además acción autocrina o paracrina, al igual que otras mioquinas, produciendo efectos positivos sobre la función muscular en ausencia de aumentos de sus niveles plasmáticos, tal como demostraron Huh et al(66) en un estudio en que observaron que la irisina estimula la activación de AMPK de forma independiente de sus niveles circulantes.

1.3. IRISINA Y ALTERACIONES DEL METABOLISMO

1.3.1. Irisina y obesidad

A raíz de los trabajos de Boström et al(1) se propuso la irisina como una hormona capaz de aumentar el gasto energético, promoviendo la pérdida de peso y disminuyendo la resistencia a la insulina inducida por dieta, con lo que se hipotetizó sobre su utilidad para el tratamiento de la obesidad. Hut et al observaron que FDNC5/irisina reducían la diferenciación de los preadipocitos(16), lo cual podría ser un mecanismo adicional para disminuir la adiposidad.

En humano, la mayoría de los estudios detectan una asociación positiva de irisina con masa grasa(7, 49, 50, 51, 88, 89) y de hecho, la mayoría de estudios han descrito una asociación positiva de la irisina con el IMC en adultos(7, 24, 49, 51, 90). Sin embargo, algún estudio ha observado una asociación negativa(7, 25, 54). Una diferencia significativa respecto a los estudios en población sana es que los niveles de irisina parecen ser superiores en hombres obesos que en mujeres, aunque las diferencias observadas en este estudio por IMC no se ajustaron por masa magra(48). En un estudio en pacientes obesos se comparó la concentración de irisina antes y después de una dieta de restricción calórica y se observó que aquellos con mayores niveles de irisina

presentaban mayores reducciones de glucosa, insulina y triglicéridos.

Se ha sugerido que los niveles de irisina aumentan en situaciones de anormalidad metabólica y que estos niveles disminuyen con la disminución ponderal, resultando en una mejoría de los parámetros metabólicos(91). Sin embargo, no todos los estudios van en consonancia; por ejemplo, Huerta et al(92) no observaron correlación entre los niveles de irisina e IMC en mujeres con sobrepeso u obesidad, pero sí que los niveles de irisina disminuyeron al bajar de peso, aunque en otros trabajos no se ha observado dicha asociación(43, 93).

Posiblemente los niveles elevados de irisina en obesos sean debidos a una compensación metabólica de carácter homeostático, lo cual sugiere que debe disminuir al reducir peso debido al cese de dicha acción compensadora. Sin embargo, en los pacientes con síndrome metabólico o en pacientes prediabéticos tipo 2 con obesidad los niveles pueden ser más bajos que en individuos sanos(25, 45, 54, 87). Estos resultados indicarían que la ruptura de la homeostasis inhibe la acción compensatoria de la irisina; basado en esto, la actividad, la obesidad, la tolerancia anormal a la glucosa y otras alteraciones metabólicas se deberían considerar a la hora de valorar la cinética de la irisina en pacientes obesos.

1.3.2. Irisina y metabolismo de la glucosa

La irisina estimula el transporte de glucosa en el proceso de biogénesis mitocondrial del adipocito pardo que activa la termogénesis y el consumo de lípidos, aumentando el consumo de energía y mejorando el metabolismo de la glucosa y los lípidos mediante glicolisis y fosforilación oxidativa(94).

La irisina tiene diversos efectos potencialmente favorables sobre la homeostasis glicémica(31) y la sensibilidad a la insulina(83), promoviendo el gasto energético y la glucogenólisis y la captación de glucosa, y por otro lado reduciendo la glucogenogénesis(45, 95), la adipogénesis y el almacenamiento lipídico(96).

En sujetos no diabéticos, en general, los niveles de irisina se asocian positivamente a los niveles basales de glucosa(23, 24, 92). Un estudio advierte que niveles elevados de irisina en sujetos aparentemente sanos podrían predecir el desarrollo de diabetes(97). Sin embargo, Tabak(98) et al no observaron una relación positiva entre los niveles de irisina y los niveles plasmáticos de glucosa e insulina. En un estudio transversal con 254 sujetos con metabolismo glicémico normal los niveles de irisina se correlacionaron positivamente con la función β , incluso ajustando por factores de confusión antropométricos y metabólicos(99). Sin embargo en otro estudio no se ha encontrado correlación en otros parámetros del metabolismo glicémico como la función de células β (HOMA- β), los niveles en ayunas tanto de péptido C o de insulina con los niveles de irisina(100).

Los cambios agudos en los niveles de glucosa o insulina, como tras un test de tolerancia a la glucosa, no parecen influir en los niveles de irisina(92). En pacientes con diabetes tipo 2 se ha evidenciado que la secreción de irisina por parte de adipocitos es menor que en controles(87). Choi et al(54) encontraron que los niveles séricos de irisina estaban disminuidos en pacientes con diabetes tipo 2, señalando que la irisina podría jugar un papel crucial en la intolerancia a la glucosa y en la diabetes mellitus tipo 2. Liu et al(23) por su parte observaron también que los niveles de irisina eran más bajos en los pacientes con diabetes tipo 2 comparado con los controles no diabéticos y que los niveles de irisina se asociaban a factores metabólicos en sujetos no diabéticos, pero no en los diabéticos. Se han comunicado niveles menores de irisina entre pacientes con diabetes mellitus tipo 2(7, 23, 54, 87, 90, 101); es más, dicha asociación parece ser independiente de la edad, género, IMC(23) o del tiempo de diagnóstico o si se hace algún tipo de tratamiento(23, 54, 87). Reforzando dicha asociación, se encuentran niveles aún más bajos en pacientes con complicaciones de la diabetes tipo 2(102, 103). No obstante, otros estudios han encontrado una asociación positiva entre los niveles de irisina y niveles plasmáticos de glucosa en pacientes con diabetes tipo2(88, 94) y alguno de forma más minoritaria no asociación ni positiva ni negativa entre irisina y diabetes

tipo 2(43).

En cuanto a la resistencia a la insulina, en general la mayoría de estudios apuntan a la existencia de una asociación positiva con los niveles de irisina en individuos no diabéticos, tal como se ha concluido tras un metaanálisis de 17 estudios que incluyó 1912 sujetos(104). Se ha observado una correlación positiva entre HOMA-IR y los niveles de irisina(89, 105), también en pacientes obesos(51, 88), lo cual indicaría que se puede producir una secreción de irisina de forma compensatoria por parte del tejido adiposo para mejorar la homeostasis glicémica en respuesta a la adiposidad y a la resistencia a la insulina. Sin embargo, Moreno-Navarrete et al(7) observaron una correlación negativa en varones obesos. Algunos autores han propuesto diferencias de tipo étnico y de edad para justificar estas diferencias; Benedini et al(106) compararon los niveles de irisina en un grupo de atletas con individuos sedentarios y observaron niveles de irisina similares en ambos grupos, aunque los valores de irisina/HOMA-IR fueron significativamente más altos entre los sedentarios o aquellos sujetos que solo realizaban actividades recreacionales.

En cuanto a la diabetes tipo 1, los estudios respecto a su relación con los niveles de irisina son mucho más escasos, habiéndose observado niveles más elevados comparado con individuos sanos, aunque sin correlación con los niveles de glucosa o HbA1c(107, 108).

1.3.3. Irisina y metabolismo lipídico

En estudios celulares la irisina ha mostrado efectos sobre el metabolismo lipídico, con efectos en el tejido adiposo según el tipo de adipocito (premaduro o maduro), la localización (grasa visceral o subcutánea) y tipo de tejido adiposo (grasa blanca o grasa parda).

Los adipocitos tratados con FDNC5/irisina presentan múltiples gotitas lipídicas multiloculadas, alta densidad mitocondrial y aumento del gasto energético, todo ello

signos del fenotipo de adipocito beige/marrón(1). Asimismo, los adipocitos tratados con irisina son más pequeños y acumulan menos lípidos que los adipocitos control. La irisina además estimula la lipólisis basal e inducida, y estimula el metabolismo intracelular de los lípidos(16, 109, 110). El grupo de Grygiel-Górniak demostró que la irisina estimula el amarronamiento de los adipocitos blancos y la termogénesis activando UCP1 e inhibe la adipogénesis(111). Los estudios demuestran que la termogénesis que se produce en la grasa marrón comporta una mejoría de la tolerancia a la glucosa, de la sensibilidad a la insulina y se asocia a mayor disminución de masa grasa y peso, comparado con la grasa blanca subcutánea o grasa visceral(112, 113, 114). Se ha comunicado que la irisina regula la expresión de genes relacionados con la lipólisis, contribuye a la secreción de glicerol y disminuye la acumulación de lípidos en determinadas poblaciones de adipocitos(110). En estudios en ratones se ha demostrado que la sobreexpresión de FDNC5 aumenta la lipólisis y reduce la hiperlipidemia(109). Gouni-Berthold et al observaron una correlación entre los niveles plasmáticos de irisina y la expresión de mRNA del receptor de LDL y un papel en la homeostasis general del colesterol(93).

En general los estudios experimentales demuestran un efecto positivo de la irisina sobre el metabolismo lipídico. En un trabajo realizado por el grupo de Xiong se trató con un lentivirus recombinado que expresaba FNDC5 a ratones alimentados con una dieta rica en grasas y se produjo una reducción del 50% en triglicéridos y de un 30% en los niveles de colesterol y ácidos grasos(109).

Sin embargo, en humanos los datos son conflictivos. Por ejemplo, Hwang et al encuentran una asociación favorable de la irisina con el perfil lipídico(115, 116) y en otros estudios la irisina se asoció a lipoproteínas como HDL y VLDL consideradas protectoras contra la aterogénesis(117). Sobre el efecto sobre HDL se especula por estudios en animales que niveles bajos de HDL podrían ser una señal de feedback directo sobre miocitos(118) que estimularía la secreción de irisina; en otro estudio se objetivó que una disminución de irisina se ha asociado a una mejoría (disminución) en

los niveles de colesterol total, LDL- colesterol y apolipoproteína B(119). Sin embargo, en otros estudios niveles altos de irisina se han asociado a dislipemia(23, 88, 105, 120).

1.4. IRISINA E INFLAMACIÓN

La irisina mostró efectos antiinflamatorios ya en algunos de los primeros estudios al respecto en ratones(61). Mazur-Bialy et al(32) observaron que la irisina a altas concentraciones reduce significativamente los niveles de las proteínas de la vía TLR4 y MyD88(91), así como la fosforilación de NFκB, lo cual conduce a una reducción en la liberación de mediadores proinflamatorios como IL-1β, TNF-α, IL-6 o MCP-1(59). Otros autores han observado que la irisina reduce la expresión de marcadores inflamatorios en macrófagos, su reclutamiento y migración y que estimula el paso de macrófagos tipo M1 a M2(59), así como su activación proinflamatoria(32, 121) y la activación de NFκB por estos(122). Mazur-Bialy et al(123) demostraron que el tratamiento con irisina suprimió la expresión de NF-κB, TNF alfa e IL-6 de forma dosis-dependiente en adipocitos activados con lipopolisacárido. Otros autores han demostrado una asociación transcripcional profunda entre marcadores inflamatorios (IL-6 y TNF) y FDNC5/irisina(124), habiéndose incluso sugerido un papel frente al cáncer debido a su efecto sobre NKKB(122). Dong et al no solo han replicado la disminución de la expresión de TNF e IL-6 con irisina, sino que ésta también estimulaba la polarización macrofágica del fenotipo M1 al M2(59). Por otra parte, en sentido contrario pero reforzando esta asociación entre obesidad e inflamación, la disminución de grasa y/o peso se asocia a reducción de inflamación(125, 126, 127).

Aparte de la reducción de mediadores proinflamatorios también se ha observado la relación de la irisina con mediadores antiinflamatorios; como IL-10(7).

Puesto que se ha evidenciado que el ejercicio se asocia a ciertos efectos antiinflamatorios(128, 129, 130), y dado que la irisina está relacionada con los efectos

beneficiosos del ejercicio, se ha sugerido que la irisina pudiera estar implicada en dicho efecto antiinflamatorio(40).

Sin embargo, cuando existe obesidad es mucho más probable que la relación entre inflamación e irisina se encuentre mediada por la adiposidad. En la obesidad existe una inflamación de bajo grado en la grasa blanca que se manifiesta por hipertrofia de los adipocitos y por un incremento en el número de macrófagos en tejido adiposo, con activación de vías de señalización proinflamatorias y aumento en la producción de citoquinas proinflamatorias(131). Es bien conocido que, en la obesidad, la inflamación del tejido adiposo puede alterar y deteriorar la adipogénesis parda y hacer que el metabolismo energético sea menos eficiente a través de complejas interacciones entre macrófagos y adipocitos(132). Los depósitos de grasa ectópicos tienen un papel en la producción de citoquinas inflamatorias(133), especialmente los situados a nivel intraabdominal(134). La excesiva acumulación de grasa en adipocitos junto con la infiltración del tejido graso por varios tipos de células inmunocompetentes, la mayoría macrófagos del tejido adiposo, parece ser la principal causa de esta inflamación de bajo grado(135, 136).

Por último, las adipocitoquinas, citoquinas secretadas por los adipocitos, se han propuesto como mediadoras en la interacción entre el tejido adiposo y la inflamación, especialmente con la inflamación de bajo grado y la afectación cardiovascular asociada(137). Existen adipocitoquinas proinflamatorias que se encuentran elevadas en la obesidad, como la leptina, la resistina(138) o la visfatina(139, 140) y que se han visto también relacionadas con la irisina(141, 142).

1.5. IRISINA EN ARTROSIS

La artrosis es la enfermedad articular más frecuente y es la principal causa de dolor y discapacidad crónicos(143) y de disminución de calidad de vida en adultos(144, 145).

La rodilla es la articulación más frecuentemente afectada, estimándose que la artrosis de rodilla sintomática afecta a un 10-16% de los adultos(146). Su prevalencia aumenta con la edad, desde el 3% en el rango de edad 45-54 años al 44% en los mayores de 80 años. Debido a su elevada prevalencia, la cual aumenta con la edad, y que en las sociedades occidentales la esperanza de vida es cada vez más alta, y debido también a su asociación con la obesidad, cuya alta prevalencia también va en aumento, el coste sanitario-financiero debido a la artrosis es enormemente alto y con la previsión de que será cada vez mayor. Debido a su influencia en la calidad de vida y el gran coste sanitario y social es de crucial importancia descubrir mecanismos patogénicos de la enfermedad que ayuden al diagnóstico temprano y/o permitan un tratamiento eficaz y precoz. Las terapias actuales de la artrosis no influyen sobre la afectación estructural y su progresión, siendo el tratamiento farmacológico básicamente sintomático, si bien sólo alrededor de la mitad de los pacientes alcanza una mejoría del 30% del dolor, frecuentemente sin mejoría significativo de la función(147). Es por ello por lo que a nivel terapéutico tiene especial importancia la prevención de los factores de riesgo asociados tanto a desarrollo como a progresión de artrosis, algunos de los cuales son claramente modificables, especialmente el ejercicio, el cual se ha mostrado eficaz como modificador sintomático y no está asociado a efectos secundarios como lo están AINEs y opioides, en una población como los pacientes con artrosis que suelen ser especialmente vulnerables a ellos(148, 149).

Actualmente existe amplio acuerdo en que en la artrosis intervienen una combinación de factores biomecánicos e inflamatorios que finalmente provocan los cambios a nivel osteocondral, siendo la degradación del cartílago su elemento más reconocible(150).

Entre los principales factores de riesgo no modificables en artrosis de rodilla están el sexo (más frecuente en mujeres), y la edad; en el caso de la artrosis de rodilla se podría añadir las lesiones traumáticas(151). Estudios de agregación familiar y en gemelos han establecido que al menos en muchos casos puede existir un componente genético para el desarrollo de la artrosis de rodilla(152, 153, 154), aunque los factores ambientales

suelen ser más o menos evidentes en la mayoría de los casos.

Entre todos los factores de riesgo modificables la obesidad es la que más claramente se ha implicado en la patogenia de la artrosis(155). La presencia de obesidad se ha demostrado clara y consistentemente asociada a un aumento del riesgo de desarrollar artrosis de rodilla, así como de su severidad clínica y progresión estructural(156). Los cambios en la composición corporal relacionados con la edad, que se asocian a un incremento del tejido adiposo y una reducción de la cantidad y calidad de la masa muscular y función muscular, son también motivo de creciente interés en el estudio de la artrosis(157). Asimismo, existe entre los pacientes una asociación o mayor prevalencia de otras alteraciones del metabolismo, tanto de la glucosa(158), como del perfil lipídico(159) o una mayor asociación a síndrome metabólico(160).

La debilidad muscular, y específicamente la debilidad de los músculos extensores de la rodilla, se considera un factor de riesgo para el desarrollo y progresión de la artrosis de rodilla(161). Por el contrario, se debe tener presente que el ejercicio moderado presenta efectos beneficiosos para la salud articular(162). De hecho, el ejercicio terapéutico se considera como una de las bases del tratamiento no farmacológico de la artrosis en las principales guías de tratamiento de la enfermedad(163, 164), habiéndose demostrado que la mejoría de la fuerza muscular y de la función física es eficaz en la reducción del dolor de los pacientes con artrosis(165, 166, 167). En este sentido se ha propuesto a la irisina como un potencial marcador de afectación muscular y sarcopenia(56) y Park et al demostraron que un programa de ejercicio elevó los niveles de irisina y fue capaz de mejorar parámetros morfológicos y fisiológicos, tales como factores de crecimiento muscular y factores inflamatorios, en mujeres ancianas con artrosis(168).

Sin embargo, los estudios a nivel clínico de irisina en pacientes con artrosis son muy escasos, y solo en los últimos años se están comunicando estudios que a nivel experimental apuntan a potenciales efectos positivos de la irisina en artrosis.

Se ha observado que la irisina es capaz de inducir la diferenciación condrogénica(169).

Li et al han demostrado que la irisina se encuentra implicada en todas las etapas del

desarrollo del cartílago articular(170), pudiendo presentar efectos protectores a nivel de cartílago articular(170, 171).

Wang et al observaron que los condrocitos de articulaciones con artrosis en humanos expresan niveles disminuidos de FNDC5, y los mismos autores comprobaron en un modelo animal de artrosis que la administración intraarticular de irisina mejoró la autofagia y la apoptosis en condrocitos, la producción de glucosaminoglicanos por los condrocitos, y la inhibición del crecimiento mediada por IL-1 β , así como el stress oxidativo mediado por inflamación y parámetros clínicos como la sinovitis o la movilización en dicho modelo animal(172). Li et al también han observado que la irisina podría tener un papel protector del cartílago en un modelo de lesión de condrocito inducida por IL-1 β (173).

Otros aspectos en que la irisina parece encontrarse implicada en la patogenia de la artrosis es la resistencia frente a factores inflamatorios. Vadalà et al observaron que la irisina puede estimular *in vitro* la proliferación y el anabolismo de condrocitos de pacientes con artrosis mediante la inhibición de p38, Akt, JNK y NF κ B (172, 174). También se ha evidenciado la supresión por la irisina de la vía PI3K/Akt/ NF κ B bajo estimulación mecánica moderada, que protegería a los condrocitos de la piroptosis(171).

Por último, a nivel óseo *in vitro* la irisina parece jugar un papel en la activación de la vía Erk, reduciendo la apoptosis de los osteocitos y lo cual podría mejorar la microarquitectura del hueso subcondral y atenuar la progresión de la artrosis(175). Otros estudios también han observado un papel de la irisina en la regulación de la densidad ósea(176, 177).

A pesar de que la artrosis en general, y la artrosis de rodilla en particular, es una patología en la que son relevantes a nivel patogénico factores con los que la irisina ha demostrado tener relación, como son la obesidad y otras alteraciones metabólicas, factores inflamatorios locales, o la afectación muscular y el ejercicio, la relación de la irisina en pacientes con artrosis no ha sido hasta la fecha estudiada, con excepción de

un único estudio centrado en la afectación radiológica en artrosis de rodilla(178).



JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

La irisina es una molécula con una clara relación con el ejercicio por un lado y, por otro, con diversas anomalías metabólicas. A pesar de que su descubrimiento se realizó hace una década, ya se ha estudiado la relación de la irisina con diversas enfermedades crónicas con un evidente componente metabólico asociado, como la esteatosis hepática, el ovario poliquístico, el síndrome de Prader-Willi o complicaciones de enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, y a pesar de que la irisina se ha relacionado con diversos factores que se han demostrado influyentes sobre el inicio y especialmente el desarrollo y progresión de la artrosis de rodilla, como son la obesidad y otras alteraciones metabólicas, la atrofia muscular o factores inflamatorios, hasta la fecha apenas existe un solo estudio clínico de irisina y artrosis y está centrado únicamente en la asociación con la afectación radiológica.

Así pues, existe un vacío de conocimiento al respecto del eventual papel de la irisina en pacientes con artrosis y su posible influencia sobre la severidad clínica de la enfermedad o sobre alguno de sus componentes, aunque sí existe un cada vez mayor cuerpo de evidencia experimental en estudios in vitro o en modelos animales. Además, no se conoce si la actividad física de los pacientes con artrosis puede influir en los niveles de irisina o si puede relacionarse con otros parámetros clínicos de la enfermedad, lo cual podría tener especial relevancia en una enfermedad que es altamente prevalente y asociada a alta discapacidad y para la cual no existe tratamiento médico específico en la actualidad.

Es por ello que se ha creído justificado el estudio de esta mioquina en pacientes con artrosis de rodilla y su relación con los síntomas, otras citoquinas y factores metabólicos,

motivo de la presente tesis doctoral.



HIPÓTESIS

3. HIPÓTESIS

La irisina se relaciona con la gravedad clínica y radiológica y con marcadores de inflamación en pacientes con artrosis de rodilla con componente inflamatorio.



OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

Objetivo principal:

- Evaluar la asociación de los niveles de irisina en sangre y líquido sinovial con el dolor y la afectación funcional en pacientes con artrosis de rodilla.

Objetivos secundarios:

- Valorar la relación entre los niveles de irisina en sangre o líquido sinovial con la severidad radiológica en pacientes con artrosis de rodilla.
- Determinar la correlación entre niveles de irisina en sangre o líquido sinovial con parámetros inflamatorios y adipocitoquinas pacientes con artrosis de rodilla
- Estudiar las distintas asociaciones entre los niveles de irisina en sangre o líquido sinovial con la obesidad y otras alteraciones metabólicas en pacientes con artrosis de rodilla.
- Evaluar la relación entre ejercicio y niveles de irisina en pacientes con artrosis de rodilla.



MATERIAL Y MÉTODOS

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Diseño y pacientes del estudio

Se trata de un estudio transversal con inclusión consecutiva de 115 pacientes de sexo femenino con edades comprendidas entre los 50 y 85 años visitadas en el servicio de reumatología del Hospital Universitari Parc Taulí por artrosis primaria de rodilla, sintomática y diagnosticada según criterios del American College of Rheumatology (ACR)(179) y que presentaban derrame sinovial clínicamente evidente en la exploración física. El derrame sinovial fue confirmado mediante ecografía, debiéndose objetivar la presencia de una colección hipoecoica en dicha exploración de ≥ 4 mm a nivel de la línea suprapatelar media para su inclusión en el estudio. Se definió artrosis de rodilla sintomática cuando el paciente presentaba una intensidad de dolor de ≥ 4 unidades en una escala analógico-visual (EVA) de dolor de 10 unidades a pesar de recibir tratamiento de forma estable en los últimos 3 meses. Solo aquellos pacientes que referían derrame persistente o con derrame sinovial documentado en varias visitas se consideraron elegibles para el presente estudio. Se excluyeron los pacientes con artrosis secundaria, así como aquellos con antecedentes de traumatismo significativo en rodillas, meniscopatía, reumatismo inflamatorio, cirugía previa en rodilla o con cualquier patología que pudiera interferir con la valoración del dolor, así como también fueron excluidos pacientes que hubieran recibido tratamiento sistémico con glucocorticoides o tratamiento intraarticular con glucocorticoides en los 3 meses previos o ácido hialurónico en los 6 meses previos a su inclusión. El periodo de reclutamiento fue de octubre de 2013 a junio de 2015. Solo se incluyeron mujeres en el presente estudio para homogeneizar la muestra dado que está bien establecida la existencia de diferencias en referencia al género en cuanto a percepción del dolor, medidas antropométricas referidas al contenido y distribución de grasa, así como en cuanto a los niveles de irisina,

adipocitoquinas o marcadores de inflamación en general(180, 181, 182).

Este estudio fue aprobado por el comité ético del Hospital Universitari Parc Taulí de Sabadell. Todos los pacientes incluidos fueron informados verbalmente acerca de los objetivos y procedimientos del estudio y firmaron consentimiento informado.

5.2. Valoraciones:

La siguiente información fue recogida de forma sistemática en todos los pacientes: edad, tiempo de evolución desde el inicio de los síntomas de la artrosis de rodilla, índice de masa corporal (IMC, kg/cm²), ejercicio físico (categorizado como no/nunca, esporádico (menos de 150 minutos/semana) o práctica regular de ejercicio (>150 minutos/semana); se determinaron diversas medidas de adiposidad mediante ciertas medidas y la realización de impedanciometría (porcentaje de grasa corporal, perímetro de cintura, índice cintura-cadera), la existencia de anomalías del metabolismo glicémico o lipídico y el cumplimiento de criterios de síndrome metabólico según definición NCEP-ATP III(183) (ver criterios en información adicional). La gravedad radiológica fue valorada mediante radiografía simple anteroposterior de la rodilla realizada en los últimos 18 meses y se evaluó mediante la escala de Kellgren-Lawrence(184). Se utilizó el índice algofuncional de Lequesne(185) para valorar la severidad clínica en el momento de la visita. El índice de Lequesne incluye 11 preguntas que hacen referencia a molestias/dolor en la rodilla, dificultades con la deambulación, y dificultades relacionadas en la vida diaria, resultando una puntuación de 0 a 24; una puntuación superior a 7 indica enfermedad severa y si es superior a 14 indica enfermedad muy severa.

A todos los pacientes se les realizó una extracción de sangre venosa, así como de líquido sinovial mediante artrocentesis en el mismo día. Para una valoración adecuada y homogénea de los niveles de irisina todos los pacientes acudían a consulta en ayunas entre 8:30-9:00 a.m. y se realizaban las extracciones tras un periodo de reposo de unos

30 minutos. Todas las muestras de líquido sinovial fueron analizadas para asegurar que se trataba de un líquido articular con características no inflamatorias (<2000 células) y con ausencia de microcristales. Las muestras obtenidas fueron procesadas y almacenadas a -80°C, conservándose hasta el momento de su análisis. Las muestras fueron analizadas mediante enzimoimmunoanálisis de absorción (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) de acuerdo con las recomendaciones de los distintos fabricantes, analizándose en líquido sinovial y sangre las siguientes moléculas con los correspondientes kits: irisina (Human Irisin Elisa kit (Cusabio), marcadores inflamatorios IL-6 y TNF- α (Milliplex HCYTOMAG-60 K-03; Merck Millipore, Billerica, MA, USA) y las adipocitoquinas leptina (Human Leptin ELISA Kit (Biocompare, California, USA), adiponectina (Adiponectin ELISA kit (eBioscience, California, USA), resistina (Human Resistin ELISA Kit (Raybiotech, GA, USA), osteopontina (Osteopontin ELISA kit (eBioscience, California, USA), visfatina (Visfatin ELISA kit (Phoenix Pharmaceuticals, California, USA), omentina: Cusabio (China), quemerina (Elabscience (China). Por motivos técnicos inherentes a la técnica de ELISA (configuración de la placa empleada), no todos estos marcadores se pudieron analizar al mismo tiempo para todos los pacientes; para controlar adecuadamente dicha variabilidad técnica se tuvieron en cuenta las diferentes tandas de análisis como un factor de ajuste en el análisis estadístico. El resto de los resultados analíticos relacionados con el metabolismo glicémico y lipídico se llevó a cabo por el centro de análisis del Hospital Universitari Parc Taulí Sabadell dentro de la práctica clínica habitual con la sangre obtenida en la misma extracción.

5.3. Análisis estadístico

Los datos clínicos y parámetros de laboratorio, así como sus asociaciones con la severidad clínica y los niveles de irisina, se analizaron mediante pruebas no paramétricas. Las medianas, rangos intercuartílicos y la correlación de Spearman (r) se

utilizaron para el análisis de variables continuas, mientras que se usaron frecuencias y los tests de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis para el análisis de variables categóricas. Se usaron modelos de regresión lineal y logística para analizar la asociación con la severidad clínica controlando por los potenciales factores de confusión. Las siguientes variables fueron incluidas en el análisis multivariante: edad en la inclusión, tiempo de evolución de la artrosis de rodilla, grado de Kellgren-Lawrence, nivel de ejercicio e IMC. Los modelos lineales se ajustaron para ser transformados de acuerdo con las variables explicativas cuando fuera necesario para que encajara el modelo. Como ya se ha comentado, en todo momento se controlaron los datos analíticos por variabilidad técnica; por este motivo no se pudieron establecer valores reales de las adipocitoquinas, irisina y marcadores de inflamación analizados ni puntos de corte. Se estableció un nivel de significación estadística en el 5%. Todos los análisis estadísticos se realizaron con R.



RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. Descripción de la cohorte

Se analizaron 115 pacientes de sexo femenino cuyas principales características generales respecto a los datos demográficos y principales medidas antropométricas, gravedad clínica (índice de Lequesne) y radiológica (escala de Kellgren-Lawrence) se detallan en la Tabla 1A. Destaca una edad media en el momento de la primera visita de 68.6 ± 11 años, que se encuentra dentro del rango más habitual de pacientes con artrosis sintomática de rodilla, y un tiempo medio de evolución de la gonalgia mecánica de poco más de 4 años (50 meses), con lo cual se puede considerar una muestra con una enfermedad crónica pero relativamente poco evolucionada en cuanto a tiempo. Asimismo, se trata de una cohorte con un IMC medio de 30.5 Kg/m^2 , con un índice de obesidad en el grupo del 56.5%, encontrándose el resto de las pacientes en el rango de sobrepeso. También en este sentido, y dada la importante asociación de la existencia obesidad/sobrepeso y artrosis de rodilla, se puede considerar como un hallazgo esperable en una muestra de pacientes con artrosis de rodilla de esta edad y género. La artrosis de rodillas fue bilateral en 53 pacientes (46%) y en 68 pacientes coexistía la artrosis de manos (59%); solo 4 pacientes (3.5%) presentaban artrosis de cadera de forma concomitante.

A nivel clínico el resultado medio del índice algofuncional de Lequesne fue de 15 ± 5 , lo cual indica que se trata de una subpoblación con una afectación clínica importante en cuanto a dolor y función. Un 53% de pacientes alcanzaron una puntuación por encima de 14, que indica enfermedad extremadamente grave.

A nivel de afectación estructural, como se puede observar en la Tabla 1A, la mayoría de los pacientes presentaban KL grado 2 (41.7%) o grado 3 (41.7%), indicando que conjuntamente se trata de un grupo con artrosis estructuralmente establecida, aunque

Tabla 1A

Principales características demográficas, antropométricas y de severidad clínica y radiológica de la muestra a estudio (n=115).

		Median(IQR) Adj.Means[95%CI] N(%)
Edad en primera visita (años)		68.80 (11.07)
Duración síntomas (meses)		50.00 (73.00)
IMC(Kg/m ²)		30.50 (6.35)
Kellgren-Lawrence, score KL	1	15 (13.0%)
	2	48 (41.7%)
	3	48 (41.7%)
	4	4 (3.5%)
Índice de <u>Lequesne</u>		14.00 (5.00)
	<11, pacientes	24 (20.9%)
	11-14, pacientes	30 (26.1%)
	≥14, pacientes	61 (53.0%)
Artrosis rodillas bilateral		53 (46.1%)
Artrosis de manos		68 (59.1%)
Artrosis de caderas		4 (3.5%)
Ejercicio físico	Ninguno	53 (46.1%)
	Esporádico	28 (24.3%)
	Regular	34 (29.6%)

con muy pocos pacientes con afectación estructural muy avanzada (solo 4 pacientes (3.5%) en grado 4).

Por último, se incluye el nivel de ejercicio habitual que realizaban los pacientes. Llama la atención que solo un 29% de los pacientes hacían ejercicio de forma regular, a pesar de que es una recomendación bien establecida en el tratamiento de la artrosis de rodilla y así está recogido en todas las guías terapéuticas.

En la Tabla 1B se muestra el resumen de las variables que miden parámetros relacionados con la inflamación, tanto desde el punto de vista ecográfico en cuanto a derrame e hipertrofia sinovial por ecografía, hs-PCR en líquido sinovial, y citoquinas inflamatorias clásicas (IL-6 y TNF α), las distintas adipocitoquinas estudiadas y la irisina, tanto en líquido sinovial como en suero. Debido a los ajustes realizados inherentes a la técnica de ELISA y el momento del análisis de las distintas muestras en los diferentes kits, los valores se ajustaron por kit de determinación, por lo que no es posible establecer puntos de corte ni de referencia de los niveles.

Por último, en la Tabla 1C se encuentran los datos referidos a las variables antropométricas y metabólicas de la cohorte. Es llamativo el porcentaje de obesidad en la presente cohorte, si bien no difiere de la mayoría de los estudios sobre artrosis de rodilla y más teniendo en cuenta que es una cohorte compuesta exclusivamente por mujeres, cuyo índice de obesidad suele ser mayor que en varones cuando se trata de pacientes con artrosis de rodilla. Sin embargo, sí llama la atención los altos índices de síndrome metabólico entre los pacientes de la muestra a estudio (hasta el 40% según los criterios utilizados).

Tabla 1B: Parámetros inflamatorios ecográficos, mediadores inflamatorios, adipocitoquinas e irisina en la muestra a estudio (n=115).

		Median(IQR) Adj.Means[95%CI] N(%)
Derrame por ECO, mm		9.00 (3.50)
Derrame por ECO,mm	<8	42 (36.5%)
	8-11	46 (40.0%)
	>11	27 (23.5%)
Hipertrofia sinovial, score	0	5 (4.3%)
	1	29 (25.2%)
	2	48 (41.7%)
	3	33 (28.7%)
PCRhs LS, mg/ml		0.91 (0.76)
TNF alfa LS, pg/ml		10.19 (7.97)
IL-6 LS, pg/ml		105.99 (302.64)
Leptina LS, pg/ml		42079.42 (29565.99)
Adiponectina LS, ng/ml		1734.76 (1352.53)
Resistina LS, pg/ml		2225.65 (2205.79)
Visfatina LS, ng/ml		1.53 (1.18)
Osteopontina LS, ng/ml		57.66 (83.19)
Omentina LS, pg/ml		3395.97 (3550.35)
Quemerina LS, ng/ml		102.67 (82.47)
IRISINA LS, ng/ml		657.92 (474.50)
PCR plasma, mg/l		4.92 (6.11)
TNF-a plasma, pg/ml		5.64 (1.95)
IL-6 plasma, pg/ml		2.72 (3.31)
LEPTINA plasma, pg/ml		37948.02 (28243.77)
ADIPONECTINA plasma, ng/ml		14294.05 (9990.22)
RESISTINA plasma, pg/ml		2068.29 (1173.56)
VISFATINA plasma, ng/ml		3.78 (1.37)
OSTEOPONTINA plasma, ng/ml		10.97 (7.02)
OMENTINA plasma, pg/ml		25128.84 (22879.07)
IRISINA plasma, ng/ml		807.41 (375.87)

Tabla 1C: Parámetros metabólicos en la muestra a estudio (n=115).

IMC(Kg/m ²)		30.50 (6.35)
	Obesidad	65 (56.5%)
%grasa		41.80 (6.50)
Perímetro cintura(cm)		100.50 (14.50)
Perímetro cadera(cm)		107.00 (14.00)
Índice cintura/cadera		0.91 (0.09)
Hipertensión arterial		63 (45.54.8%)
Diabetes mellitus		12 (10.4%)
<u>Hb glicada</u>		5.80 (0.60)
<u>Insulina</u>		10.47 (7.83)
Dislipemia		55 (47.8%)
	<u>Triglicéridos</u>	119.00 (66.50)
	Colesterol- <u>HDL</u>	60.80 (19.40)
	Colesterol- <u>LDL</u>	119.00 (40.00)
	<u>Colesterol</u> total	205.00 (39.00)
<u>Síndrome</u> metabólico ATP-III		47 (40.9%)
	nº criterios sd. metabólico	0 10 (8.7%)
		1 28 (24.3%)
		2 31 (27.0%)
		3 32 (27.8%)
		4 14 (12.2%)

6.2. Relación de la irisina con la gravedad clínica y radiológica

En el análisis univariante se encontró una correlación entre los niveles de irisina en líquido sinovial (Figura 1A) y la severidad clínica medida por el índice algofuncional de Lequesne, presentando niveles más altos cuanto más severa era la afectación clínica (Tabla 2A).

A nivel radiológico, no se pudo establecer una relación entre el grado de afectación radiológica y los niveles de irisina en líquido sinovial (Tabla 2A). Sin embargo, podemos observar que si obviamos el grado 1 (grado de afectación dudosa), cuando se analizan los grados de afectación estructural establecida (grados 2-4) sí se observan niveles mayores de irisina cuanto mayor afectación estructural hay, siendo claramente más elevados en los pacientes en estadio más avanzado (grado 4), aunque el escaso número de pacientes con dicho grado de afectación radiológica hace imposible establecer conclusiones, no mostrando los datos en su conjunto tendencia a la significación estadística.

Los niveles de irisina en suero mostraron también una correlación positiva con la gravedad clínica según el índice de Lequesne (Figura 1B), pero en menor grado que la observada en líquido sinovial. De hecho, cuando se analizan los tres grupos de severidad según índice de Lequesne, a pesar de mantenerse una mayor concentración de irisina cuanto mayor es la severidad y por ello mantener una cierta significación clínica, no alcanza significación estadística (Tabla 2B).

A nivel radiológico los niveles plasmáticos de irisina, se comportaron de forma similar a los niveles articulares. Así, al excluir el grado 1 de Kellgren-Lawrence y analizar los grados con afectación estructural definida (2-4), se observaron mayores concentraciones plasmáticas de irisina asociados a mayor severidad radiológica, si bien de forma menos llamativa que los resultados observados en líquido sinovial y sin tendencia a la significación estadística.

Figura 1A

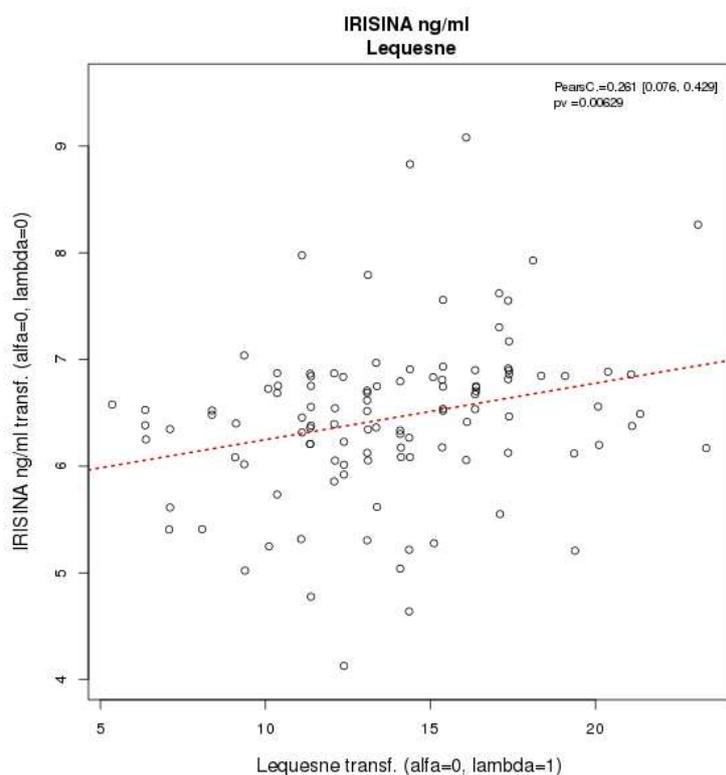


Tabla 2A: Resultados de los niveles de irisina (ng/mL) en líquido sinovial en relación a la severidad clínica y radiológica (n=115).

		N(%) Median(IQR))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
<u>Lequesne (transf)</u>		14.000 (5.000)	0.261 [0.076, 0.429]	0.00629
	<11	23 (20.7%)	473.359 [343.956, 651.446]	0.0105
	11-14	29 (26.1%)	518.321 [392.515, 684.449]	
	>14	59 (53.2%)	778.631 [640.606, 946.396]	
Kellgren-Lawrence	1	15 (13.5%)	698.893 [466.531, 1046.985]	0.8928
	2	45 (40.5%)	606.393 [480.820, 764.762]	
	3	47 (42.3%)	625.330 [498.364, 784.641]	
	4	4 (3.6%)	764.753 [350.734, 1667.496]	

Figura 1B

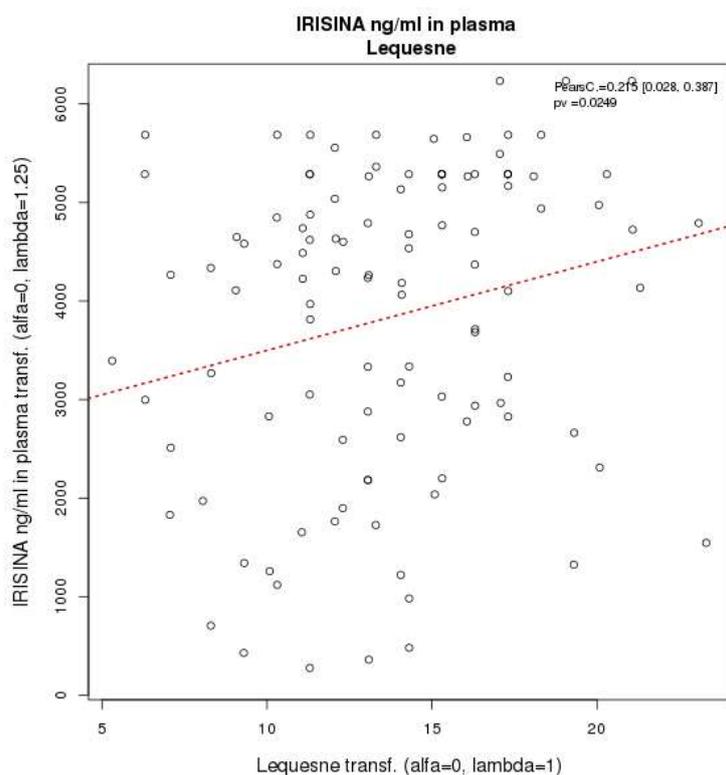


Tabla 2B: Resultados de los niveles de irisina (ng/mL) en plasma en relación a la severidad clínica y radiológica.

		N(%) Median(IQR))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
<u>Lequesne (transf)</u>		14.000 (5.000)	0.215 [0.028, 0.387]	0.0249
	<11	24 (21.4%)	666.683 [559.904, 769.327]	0.0534
	11-14	28 (25.0%)	679.539 [583.276, 772.496]	
	>14	60 (53.6%)	789.887 [727.182, 851.369]	
<u>Kellgren-Lawrence</u>	1	15 (13.4%)	758.860 [627.025, 885.172]	0.9325
	2	45 (40.2%)	717.907 [641.615, 792.221]	
	3	48 (42.9%)	745.380 [672.251, 816.755]	
	4	4 (3.6%)	753.385 [490.985, 994.231]	

Es de destacar que los pacientes con artrosis bilateral presentaban niveles plasmáticos mayores que los pacientes con artrosis unilateral (758 vs. 718 ng/mL, $p = 0.41$), y también los pacientes con artrosis concomitante de manos comparado con los que no presentaban artrosis en dicha localización (770 vs. 686 ng/mL, $p = 0.086$).

Tras observar una relación entre los niveles de irisina en líquido sinovial y la severidad clínica medida por el índice de Lequesne se realizó un análisis multivariante incluyendo las variables de influencia habituales y teniendo en cuenta la literatura médica, como son edad, tiempo de evolución de la enfermedad, grado radiológico (agrupando en afectación radiológica severa los grupos de score 3 y 4 dado el escaso tamaño muestral de este último), la obesidad y el nivel de ejercicio, así como el kit de análisis. Tras dicho análisis las únicas variables significativas asociadas a la severidad clínica fueron el grado radiológico y el nivel de ejercicio (Tabla 3A).

Sin embargo, cuando se extraía la obesidad del modelo (Tabla 3B) la irisina pasaba a ser un factor influyente en la severidad clínica, lo cual probablemente indica que el papel que juega la irisina a nivel sinovial está muy relacionado con la obesidad en sí.

En la valoración mediante análisis multivariante del efecto de los niveles de irisina en plasma sobre la severidad clínica y siguiendo la misma metodología descrita en el caso de la irisina en líquido sinovial, solo el peso, el ejercicio y la severidad radiológica quedaron como variables con significación en el modelo (Tabla 3C); en este caso, la irisina siguió sin ser estadísticamente significativa incluso sin incluir la obesidad en el modelo.

Tabla 3A. Irisina y severidad clínica (índice de Lequesne). Análisis multivariante incluyendo kit, edad, tiempo de evolución, severidad radiológica, nivel de ejercicio, obesidad e irisina en líquido sinovial

		N(%) / Median(IQR)	Adj.Means / Part.Pearson Corr. [95%CI]	Coef. [95%CI]	Wald- pval	Corr.- pval	F-pval
IRISINA ng/ml transf.		682.150 (430.425)	0.107 [-0.093, 0.299]	0.562 [-0.472, 1.595]	0.2836	0.2935	0.2836
Edad (a)		68.490 (11.068)	0.117 [-0.083, 0.309]	0.056 [-0.038, 0.151]	0.2399	0.2496	0.2399
Tiempo evol (m)		50.000 (75.000)	-0.015 [-0.213, 0.184]	-0.001 [-0.016, 0.014]	0.8785	0.8809	0.8785
Kellgren- Lawrence	1	15 (13.5%)	12.431 [10.989, 13.873]	1.015 [0.046, 1.984]			0.0403
	2	45 (40.5%)	13.446 [12.717, 14.174]				
	3-4	51 (45.9%)	14.460 [13.533, 15.388]				
Nivel de ejercicio	Ninguno	50 (45.0%)	14.588 [13.489, 15.686]	Ref.			0.0141
	Esporádico	27 (24.3%)	14.393 [13.021, 15.765]	-0.195 [-2.027, 1.636]	0.8331		
	Regular	34 (30.6%)	12.088 [10.782, 13.394]	-2.500 [-4.353, - 0.647]	0.0087		
IMC (Kg/m2)		30.400 (6.200)	0.174 [-0.025, 0.360]	0.157 [-0.019, 0.334]	0.0802	0.0866	0.0802

Tabla 3B. Irisina y severidad clínica (índice de Lequesne). Análisis multivariante incluyendo kit, edad, tiempo de evolución, severidad radiológica, nivel de ejercicio e irisina en líquido sinovial

		N(%) / Median(IQR)	Adj.Means / Part.Pearson Corr. [95%CI]	Coef. [95%CI]	Wald- pval	Corr.- pval	F-pval
IRISINA ng/ml transf.		682.150 (430.425)	0.217 [0.020, 0.397]	1.019 [0.113, 1.925]	0.0279	0.0312	0.0279
Edad (a)		68.490 (11.068)	0.076 [-0.123, 0.270]	0.036 [-0.057, 0.129]	0.4427	0.4519	0.4427
Tiempo evol (m)		50.000 (75.000)	-0.023 [-0.220, 0.175]	-0.002 [-0.017, 0.013]	0.8143	0.8180	0.8143
Kellgren- Lawrence	1	15 (13.5%)	12.550 [11.100, 14.001]	0.925 [-0.049, 1.899]			0.0626
	2	45 (40.5%)	13.475 [12.740, 14.210]				
	3-4	51 (45.9%)	14.399 [13.465, 15.334]				
Nivel de ejercicio	Ninguno	50 (45.0%)	14.743 [13.647, 15.839]	Ref.			0.00734
	Esporádico	27 (24.3%)	14.284 [12.903, 15.665]	-0.459 [-2.285, 1.367]	0.61893		
	Regular	34 (30.6%)	11.946 [10.636, 13.256]	-2.797 [-4.639, -0.955]	0.00327		

Tabla 3C. Irisina y severidad clínica (índice de Lequesne). Análisis multivariante incluyendo kit, edad, tiempo de evolución, severidad radiológica, nivel de ejercicio, obesidad e irisina en plasma

		N(%) / Median(IQR)	Adj.Means / Part.Pearson Corr. [95%CI]	Coef. [95%CI]	Wald- pval	Corr.- pval	F-pval
IRISINA ng/ml transf.		832.745 (389.085)	-0.000 [-0.197, 0.197]	-0.000 [-0.000, 0.000]	0.9998	0.9998	0.9998
Edad (a)		68.528 (11.099)	0.142 [-0.057, 0.330]	0.068 [-0.026, 0.161]	0.1526	0.1611	0.1526
Tiempo evol (m)		49.500 (75.000)	-0.005 [-0.203, 0.192]	-0.000 [-0.015, 0.014]	0.9569	0.9578	0.9569
Kellgren- Lawrence	1	15 (13.4%)	12.424 [10.975, 13.872]	0.997 [0.027, 1.966]			0.0440
	2	45 (40.2%)	13.421 [12.688, 14.153]				
	3-4	52 (46.4%)	14.418 [13.493, 15.342]				
Nivel de ejercicio	Ninguno	50 (44.6%)	14.567 [13.468, 15.667]	Ref.			0.0176
	Esporádico	28 (25.0%)	14.324 [12.972, 15.675]	-0.244 [-2.045, 1.557]	0.78892		
	Regular	34 (30.4%)	12.075 [10.751, 13.399]	-2.492 [-4.361, -0.624]	0.00945		
IMC (Kg/m2)		30.400 (6.600)	0.263 [0.069, 0.437]	0.229 [0.063, 0.395]	0.00738	0.00865	0.00738

6.3. Relación de la irisina con parámetros metabólicos

Los niveles de irisina en líquido sinovial mostraron una alta correlación positiva con el IMC, la presencia de obesidad, el porcentaje de grasa corporal y una medida de obesidad central como es el perímetro de cintura (Tabla 4A). Iguales correlaciones se observaron con los niveles plasmáticos de irisina en relación con el IMC y diferentes medidas de obesidad (Tabla 4B).

En cuanto a otros factores metabólicos y de riesgo cardiovascular, tal como se puede observar en la Tabla 4A, los pacientes con hipertensión mostraron mayores niveles de irisina en líquido sinovial, próximos a la significación estadística; resultados similares, pero más alejados de la significación estadística, se observan con la concentración plasmática de irisina (Tabla 4B). También los diabéticos mostraron niveles mayores de irisina, aunque alejados de la significación estadística, si bien sí se observó una tendencia a la significación estadística con los niveles de hemoglobina glicosilada, los cuales pasaron a ser estadísticamente significativos con los niveles de insulina, tanto con los niveles de irisina en líquido sinovial como en plasma. No se observaron datos que pudieran apuntar a una relación de los niveles articulares ni plasmáticos de irisina con los niveles de triglicéridos, o con los de colesterol total o sus fracciones.

A pesar de que no se alcanzaron niveles de significación estadística en lo referente a las alteraciones del metabolismo glicémico o lipídico, sí se observó una relación positiva significativa con la asociación con síndrome metabólico, observándose además una clara linealidad con el número de criterios de síndrome metabólico que acumulaban los pacientes (Figuras 2A y 2B), tanto con los niveles de irisina en líquido sinovial como en suero.

Tabla 4A: Relación de la irisina (ng/mL) en líquido sinovial con parámetros metabólicos.

		N(%) Median(IQ R))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
IMC(Kg/m2)		30.400 [29.500, 32.100]	0.505 [0.350, 0.634]	2.41e-08
Obesidad	No	49 (44.1%)	422.560 [347.528, 513.793]	3.61e-07
	Sí	62 (55.9%)	867.502 [729.250, 1031.963]	
%grasa		41.800 [41.200, 43.200]	0.515 [0.361, 0.641]	1.19e-08
Perímetro cintura(cm)		100.500 [98.000, 102.000]	0.472 [0.311, 0.607]	2.53e-07
Perímetro cadera (cm)		107.000 [106.000, 110.000]	0.542 [0.394, 0.663]	1.34e-09
Indice cintura/cadera		0.910 [0.900, 0.930]	0.049 [-0.141, 0.236]	0.6128
HTA	No	51 (45.9%)	544.378 [439.466, 674.335]	0.0663
	Sí	60 (54.1%)	716.429 [588.265, 872.515]	
DM	No	99 (89.2%)	625.508 [535.638, 730.457]	0.7191
	Sí	12 (10.8%)	683.157 [432.883, 1078.129]	
Hb glicada transf.		5.800 [5.700, 5.900]	0.177 [-0.012, 0.354]	0.0666
Insulina transf.		10.540 [8.970, 11.700]	0.481 [0.321, 0.614]	1.37e-07

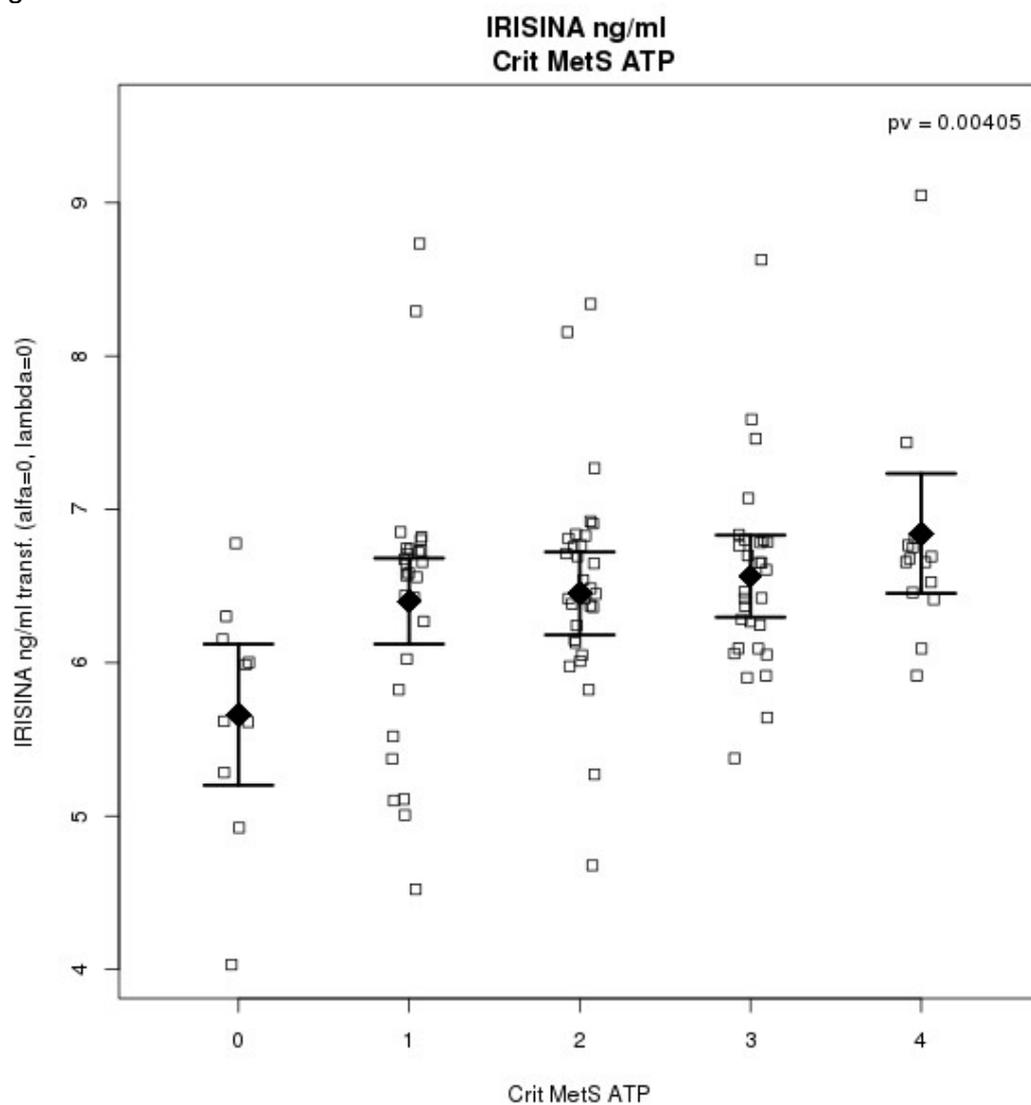
DLP	No	58 (52.3%)	625.437 [509.443, 767.841]	0.8946
	Sí	53 (47.7%)	638.199 [514.790, 791.192]	
TGD transf.		119.000 [104.000, 129.000]	0.129 [-0.061, 0.311]	0.1824
HDL transf.		60.800 [58.000, 65.600]	-0.001 [-0.189, 0.188]	0.9958
LDL transf.		119.000 [110.000, 127.000]	-0.088 [-0.272, 0.103]	0.3677
TOTAL transf.		205.000 [199.000, 211.000]	-0.063 [-0.249, 0.127]	0.5161
Síndrome metabólico ATP-III	No	66 (59.5%)	564.664 [467.615, 681.854]	0.0718
	Sí	45 (40.5%)	744.091 [591.485, 936.070]	
ATP si dLP	No	56 (50.5%)	510.118 [415.824, 625.793]	0.00516
	Sí	55 (49.5%)	784.801 [638.479, 964.655]	
n° de criterios síndrome metabólico cumplidos	0	10 (9.0%)	287.426 [181.429, 455.350]	0.00405
	1	27 (24.3%)	602.726 [455.476, 797.580]	
	2	30 (27.0%)	633.830 [483.619, 830.695]	
	3	30 (27.0%)	709.478 [542.900, 927.168]	
	4	14 (12.6%)	937.170 [634.181, 1384.916]	

Tabla 4B: Relación de la irisina (ng/mL) en plasma con parámetros metabólicos.

	Groups	N(%) Median(IQR))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
IMC(Kg/m2)		30.400 [29.500, 32.100]	0.472 [0.312, 0.607]	2.14e- 07
Obesidad	No	50 (44.6%)	614.292 [547.065, 679.724]	2.18e- 06
	Sí	62 (55.4%)	831.394 [775.789, 886.084]	
%grasa		41.700 [41.200, 43.200]	0.529 [0.378, 0.652]	3.38e- 09
Perímetro cintura (cm)		100.500 [98.500, 102.000]	0.439 [0.274, 0.580]	1.76e- 06
Índice cintura/cadera		0.910 [0.910, 0.923]	0.131 [-0.059, 0.311]	0.1758
HTA	No	51 (45.5%)	700.437 [629.209, 769.896]	0.1722
	Sí	61 (54.5%)	766.271 [702.851, 828.403]	
DM	No	102 (91.1%)	729.106 [679.665, 777.722]	0.3283
	Sí	10 (8.9%)	810.644 [651.752, 962.052]	
Hb glicada transf.		5.800 [5.700, 5.900]	0.161 [-0.028, 0.339]	0.0935
Insulina transf.		10.505 [8.970, 11.600]	0.379 [0.205, 0.529]	4.94e- 05
DLP	No	60 (53.6%)	729.220 [663.637, 793.359]	0.7484
	Sí	52 (46.4%)	744.826 [674.581, 813.449]	
Triglicéridos transf.		118.500	0.285	0.00263

		[104.000, 125.000]	[0.103, 0.449]	
Colesterol -HDL transf.		60.650 [57.800, 64.700]	-0.116 [-0.298, 0.074]	0.2295
Colesterol -LDL transf.		119.500 [110.000, 127.000]	-0.122 [-0.303, 0.068]	0.2060
Colesterol total transf.		205.000 [199.000, 211.000]	-0.096 [-0.279, 0.094]	0.3194
Síndrome metabólico ATP-III	No	67 (59.8%)	698.119 [636.586, 758.323]	0.0530
	Sí	45 (40.2%)	792.682 [719.559, 864.154]	
ATP si dLP	No	57 (50.9%)	675.318 [607.370, 741.595]	0.0128
	Sí	55 (49.1%)	798.545 [732.297, 863.445]	
nº de criterios síndrome metabólico cumplidos	0	10 (8.9%)	518.124 [347.629, 675.364]	0.00656
	1	28 (25.0%)	686.824 [594.662, 775.983]	
	2	30 (26.8%)	752.305 [663.690, 838.377]	
	3	30 (26.8%)	766.616 [679.667, 851.160]	
	4	14 (12.5%)	882.252 [759.256, 1001.088]	

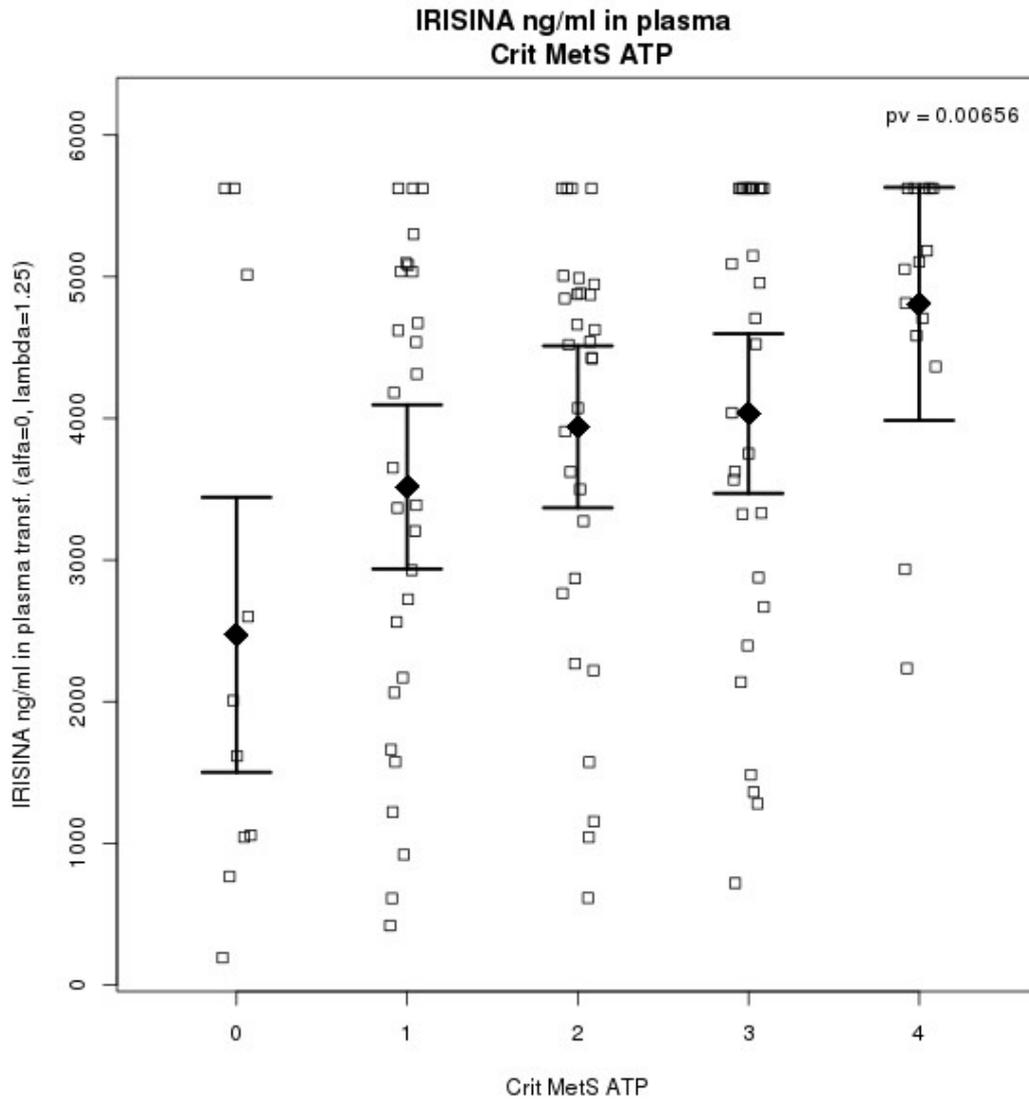
Figura 2A



Pairwise p-values (adjusted by multiple comparisons)

	0	1	2	3
1	0.007551 (0.05517)			
2	0.004159 (0.03204)	0.7983 (0.9990)		
3	0.001052 (0.00883)	0.4073 (0.9179)	0.5624 (0.9769)	
4	0.000182 (0.00166)	0.0711 (0.3591)	0.1091 (0.4835)	0.2441 (0.7626)

Figura 2B



Pairwise p-values (adjusted by multiple comparisons)

	0	1	2	3
1	0.069947 (0.35475)			
2	0.011445 (0.08011)	0.3049 (0.8365)		
3	0.006789 (0.05009)	0.2080 (0.7061)	0.8189 (0.9994)	
4	0.000422 (0.00368)	0.0122 (0.0847)	0.0920 (0.4311)	0.1250 (0.5277)

6.4. Relación de la irisina con parámetros inflamatorios

En el análisis univariante no se observó relación entre los niveles de irisina en líquido sinovial ni en plasma con las medidas ecográficas de inflamación articular (grado de derrame articular o hipertrofia sinovial) (Tabla 5A). En cuanto a los parámetros analíticos de inflamación analizados (hs-PCR, TNFa e IL-6) en líquido sinovial y en suero, solo se encontró una relación positiva entre los niveles de irisina con la hs-PCR en líquido sinovial (Figura 3A). Los niveles plasmáticos de irisina no se relacionaron con ningún parámetro inflamatorio, ni ecográfico, ni analítico (Tabla 5B).

Puesto que en la literatura existe un artículo en el que se relaciona el grado de afectación radiológica con los niveles de hs-PCR en líquido sinovial(178), se llevó a cabo dicho estudio encontrando una tendencia en el límite de la significación a presentar mayores niveles de hs-PCR en pacientes con artrosis de rodilla con mayor grado radiológico (Tabla 5C, Figura 3B y 3C).

6.5. Relación de la irisina con adipocitoquinas

Los niveles de irisina en líquido sinovial y en plasma mostraron un muy alto índice de correlación entre sí (Tabla 6A). Los niveles de irisina a nivel de líquido sinovial también presentaron un muy alto grado de correlación con los niveles de leptina, tanto con los niveles de leptina sinoviales como los plasmáticos. Con el resto de adipocitoquinas la irisina únicamente mostró correlación, de menor magnitud que la observada con leptina, con resistina en líquido sinovial, aunque no con los niveles plasmáticos de resistina (Tabla 6A).

Cuando se analizó la relación de los niveles plasmáticos de irisina con las adipocitoquinas, de forma análoga a lo observado con los niveles de irisina a nivel sinovial se observó una alta correlación con la concentración de leptina, tanto a nivel sinovial como plasmático. Del resto, llama la atención que la irisina en suero se

Tabla 5A. Relación de la irisina (ng/mL) en líquido sinovial y parámetros inflamatorios ecográficos y analíticos.

		N(%) Median(IQR))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
Derrame por ECO, mm		9.000 (3.500)	0.105 [-0.086, 0.288]	0.2788
Derrame por ECO, mm	<8	40 (36.0%)	530.416 [414.255, 679.150]	0.0903
	8-11	45 (40.5%)	764.761 [609.734, 959.203]	
	<11	26 (23.4%)	592.925 [437.532, 803.506]	
Hipertrofia sinovial, score	0	4 (3.6%)	499.995 [230.491, 1084.618]	0.5193
	1	28 (25.2%)	546.088 [406.928, 732.837]	
	2	48 (43.2%)	635.042 [506.254, 796.594]	
	3	31 (27.9%)	735.692 [548.008, 987.655]	
PCRhs LS mg/ml transf.		0.900 (0.805)	0.209 [0.021, 0.383]	0.0297
TNF-a LS pg/ml transf		10.150 (9.373)	0.075 [-0.127, 0.270]	0.4669
IL-6 LS pg/ml transf.		120.645 (308.335)	0.137 [-0.054, 0.319]	0.1584
PCR mg/l in plasma transf.		4.840 (5.750)	0.068 [-0.123, 0.254]	0.4851
TNF-a pg/ml in plasma transf.		5.710 (2.090)	0.032 [-0.158, 0.220]	0.7433
IL-6 pg/ml in plasma transf.		2.810 (3.450)	0.142 [-0.048, 0.322]	0.1429

Tabla 5B. Relación de la irisina (ng/mL) en plasma y parámetros inflamatorios ecográficos y analíticos.

		N(%) Median(IQR))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
Derrame por ECO, mm		8.900 (3.500)	0.013 [-0.176, 0.200]	0.8965
Derrame por ECO, mm	<8	42 (37.5%)	712.461 [634.017, 788.799]	0.0589
	8-11	45 (40.2%)	799.898 [727.991, 870.222]	
	<11	25 (22.3%)	660.279 [556.507, 760.108]	
Hipertrofia sinovial, score	0	5 (4.5%)	847.294 [623.518, 1057.002]	0.6657
	1	29 (25.9%)	727.978 [632.897, 820.041]	
	2	47 (42.0%)	714.017 [638.077, 787.985]	
	3	31 (27.7%)	760.042 [663.851, 853.272]	
PCRhs LS mgr/ml transf.		0.925 (0.712)	0.131 [-0.058, 0.312]	0.1737
TNF-a LS pg/ml transf		10.180 (8.630)	0.012 [-0.187, 0.210]	0.9097
IL-6 LS pg/ml transf.		122.380 (318.357)	0.097 [-0.093, 0.281]	0.3167
PCR mg/l in plasma transf.		4.850 (5.772)	0.053 [-0.137, 0.239]	0.5851
TNF-a pg/ml in plasma transf.		5.725 (2.040)	0.086 [-0.104, 0.270]	0.3745
IL-6 pg/ml in plasma transf.		2.900 (3.498)	0.173 [-0.015, 0.350]	0.0712

Tabla 5C: Relación de los niveles de Hs.PCR en líquido y suero en los diferentes grados de Kellgren-Lawrence score

	N(%) Median(IQR))	K-L 1 n= 14 (12.3%)	K-L 2 n= 48 (42.1%)	K-L 3 n= 48 (42.1%)	K-L 4 n= 4 (3.5%)	Kruskal / Fisher / F pval
PCRhs LS mg/ml transf.	0.895 [0.770, 1.010]	1.088 [0.684, 1.586]	0.669 [0.492, 0.872]	0.888 [0.682, 1.120]	1.631 [0.764, 2.823]	0.0625
PCR mg/l in plasma transf.	4.840 [3.580, 5.870]	4.780 [3.015, 7.578]	4.137 [3.221, 5.314]	5.213 [4.069, 6.680]	7.477 [3.163, 17.675]	0.4269

Figura 3A

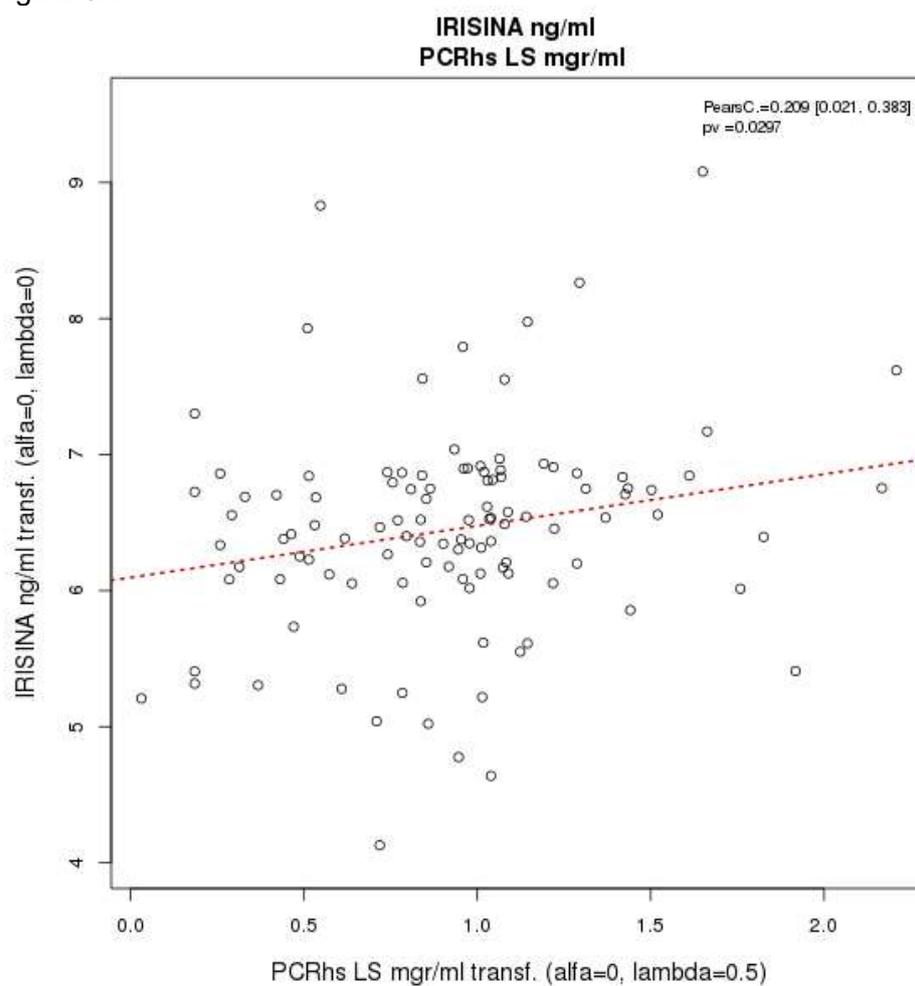
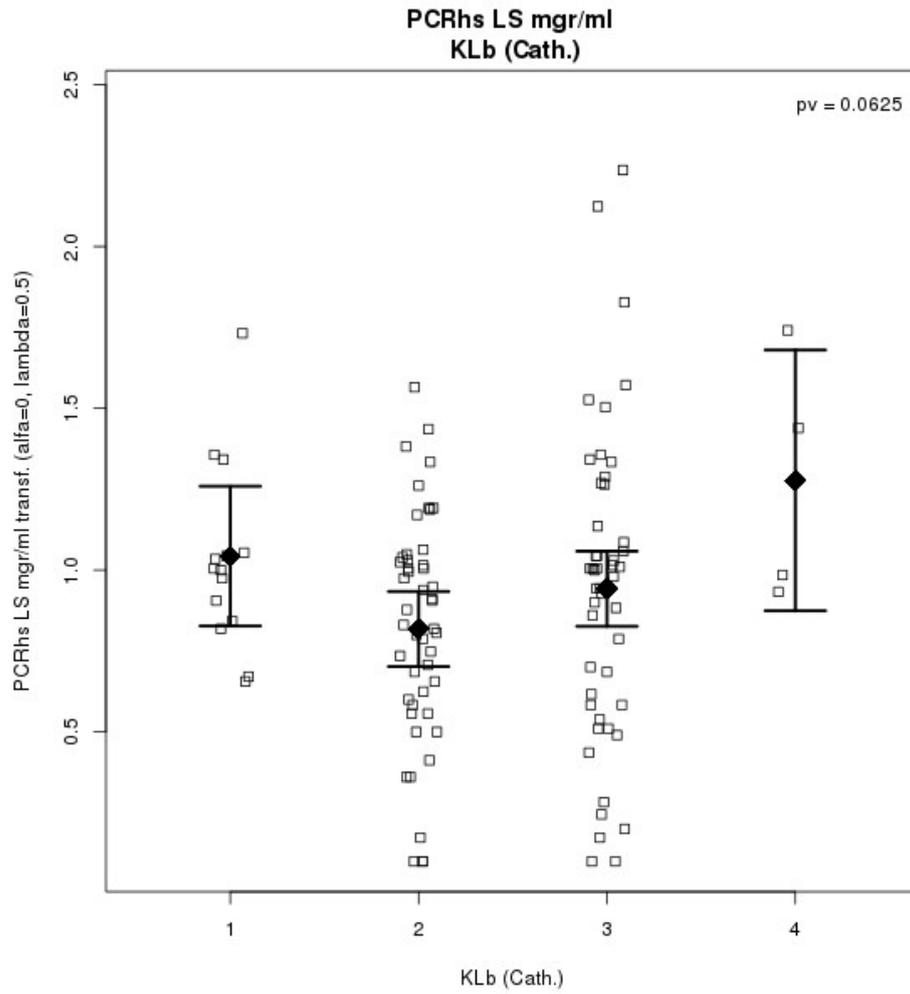


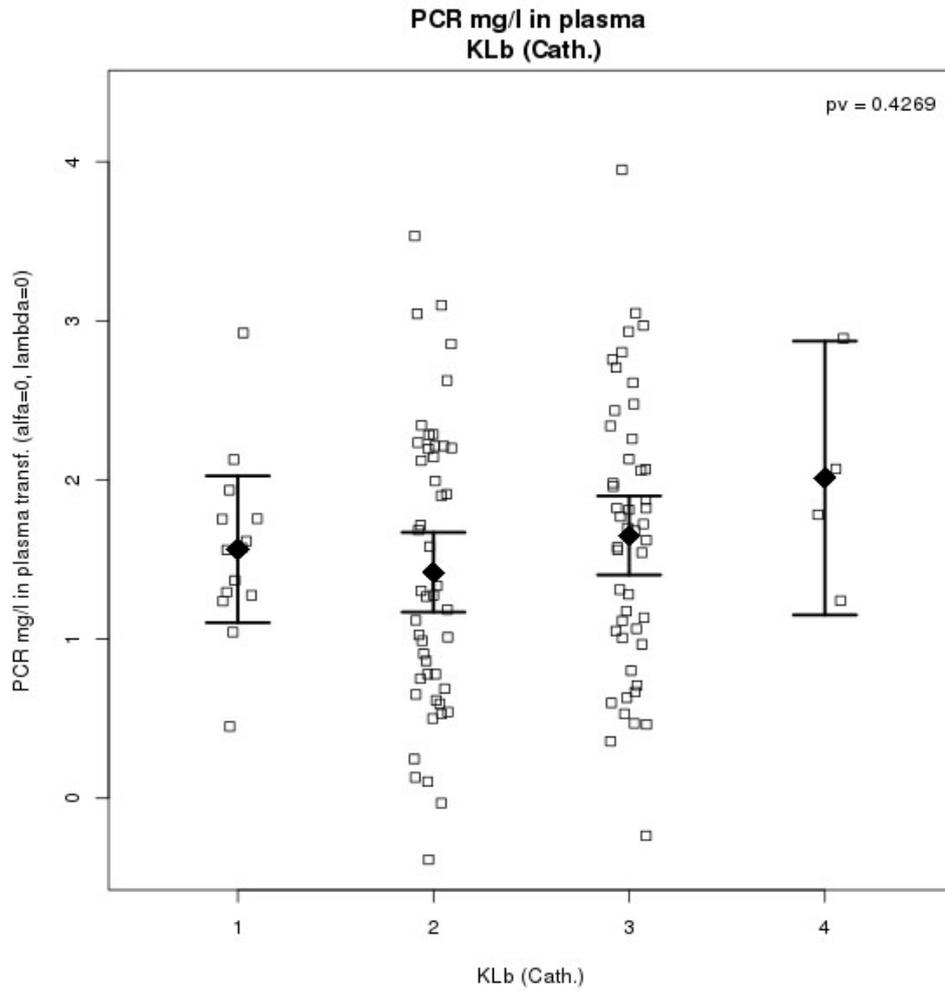
Figura 3B



Pairwise p-values (adjusted by multiple comparisons)

	1	2	3
2	0.0709 (0.2484)		
3	0.4176 (0.8365)	0.1369 (0.4195)	
4	0.3149 (0.7273)	0.0324 (0.1264)	0.1154 (0.3681)

Figura 3C



Pairwise p-values (adjusted by multiple comparisons)

	1	2	3
2	0.5858 (0.9428)		
3	0.7438 (0.9867)	0.1975 (0.5453)	
4	0.3676 (0.7885)	0.1941 (0.5388)	0.4252 (0.8432)

Tabla 6A. Relación de la irisina (ng/mL) en líquido sinovial y adipocitoquinas en líquido sinovial y en plasma.

	N(%) Median(IQR))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
Leptina LS pg/ml transf.	51550.000 (56725.000)	0.742 [0.641, 0.818]	<2e-16
Adiponectina LS ng/ml transf.	1632.730 (1814.995)	0.052 [-0.139, 0.238]	0.5964
Resistina LS pg/ml transf.	2050.780 (2898.850)	0.223 [0.035, 0.395]	0.0204
Visfatina LS ng/ml transf.	1.540 (2.875)	0.153 [-0.037, 0.332]	0.1142
Osteopontina LS ng/ml transf.	60.960 (79.000)	0.075 [-0.115, 0.261]	0.4389
Omentina pg/ml transf.	3255.500 (4301.515)	-0.014 [-0.205, 0.179]	0.8907
Quemerina ng/ml transf.	106.425 (81.110)	0.061 [-0.132, 0.250]	0.5357
Leptina pg/ml en plasma transf.	36600.000 [32800.000, 43700.000]	0.759 [0.666, 0.829]	<2e-16
Adiponectina ng/ml en plasma	12500.000 [11500.000, 15900.000]	-0.160 [-0.338, 0.030]	0.0990
Resistina pg/ml en plasma transf.	2046.190 [1883.800, 2396.430]	0.010 [-0.180, 0.198]	0.9218
Visfatina ng/ml en plasma transf.	3.800 [3.600, 4.050]	0.006 [-0.183, 0.195]	0.9509
Osteopontina ng/ml en plasma	11.390 [10.020, 12.750]	0.013 [-0.177, 0.201]	0.8954
Omentina pg/ml en plasma transf.	25400.000 [22300.000, 31500.000]	-0.169 [-0.347, 0.020]	0.0800
Irisina ng/ml en plasma transf.	825.910 [703.330, 867.230]	0.709 [0.600, 0.793]	<2e-16

correlacionó de forma inversa (Figuras 4A y 4B) con los niveles plasmáticos de adipocitoquinas consideradas protectoras o beneficiosas a nivel metabólico, como adiponectina y omentina (Tabla 6B, Figuras 4C y 4D).

En el análisis univariante se observó una relación entre hs-PCR y ciertas adipocitoquinas. Cuando en el análisis multivariante se incluyeron tanto la hs-PCR como las adipocitoquinas estudiadas, se mantuvo la alta relación entre irisina sinovial y obesidad, así como una relación estadísticamente significativa con resistina y especialmente con leptina al incluir las adipocitoquinas en el análisis, tal como se detectó en el análisis univariante, así como con el ejercicio (Tablas 7A y 7B). El mismo análisis multivariante de la irisina plasmática, encontró únicamente una muy estrecha relación estadística con IMC (Tabla 8A). Cuando se repitió el análisis incluyendo PCR y adipocitoquinas no se evidenciaron cambios en el caso del análisis en plasma, observándose solo una clara relación con los niveles plasmáticos de leptina (Tabla 8B).

6.6. Relación de la irisina con el ejercicio

Al analizar la relación de los niveles de irisina con el nivel de ejercicio se observó una relación inversa con éste, es decir, a menores niveles de ejercicio se asociaban mayores niveles de irisina, tanto con irisina a nivel articular (Tabla 9A, Figura 5A) como, y quizás incluso de forma más evidente, con la irisina a nivel plasmático (Tabla 9B, Figura 5B). En el análisis de los factores asociados a cada grado de actividad física se observó una clara relación inversa estadísticamente significativa con la obesidad y otros parámetros antropométricos y metabólicos (Tabla 9C).

De manera análoga al caso de la severidad clínica descrito anteriormente y puesto que se observó una relación entre los niveles de irisina en líquido sinovial y el nivel de

Figura 4A

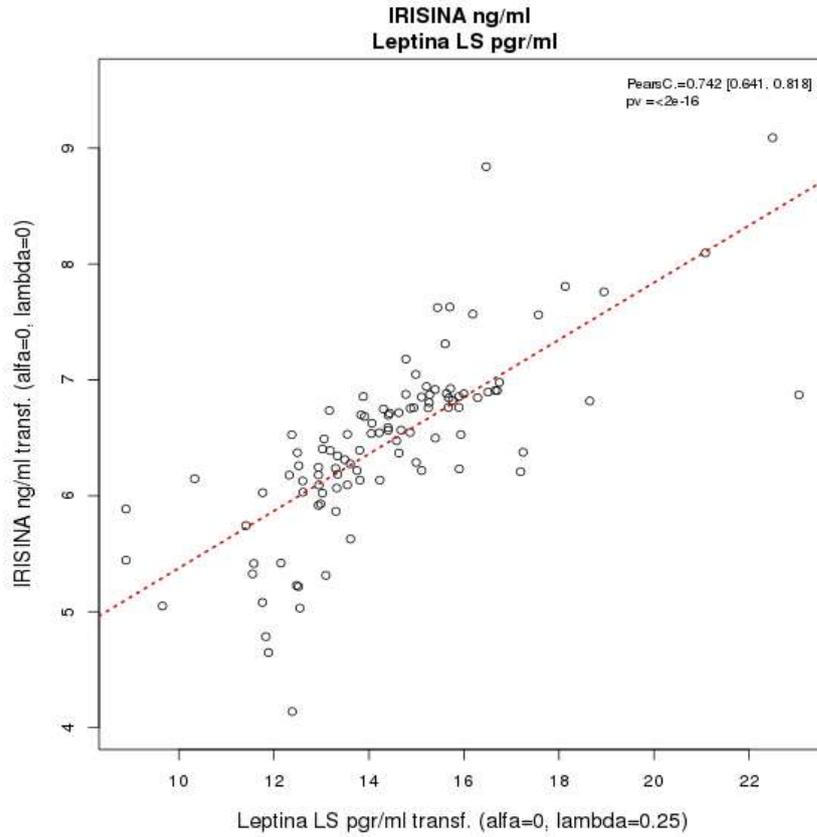


Figura 4B

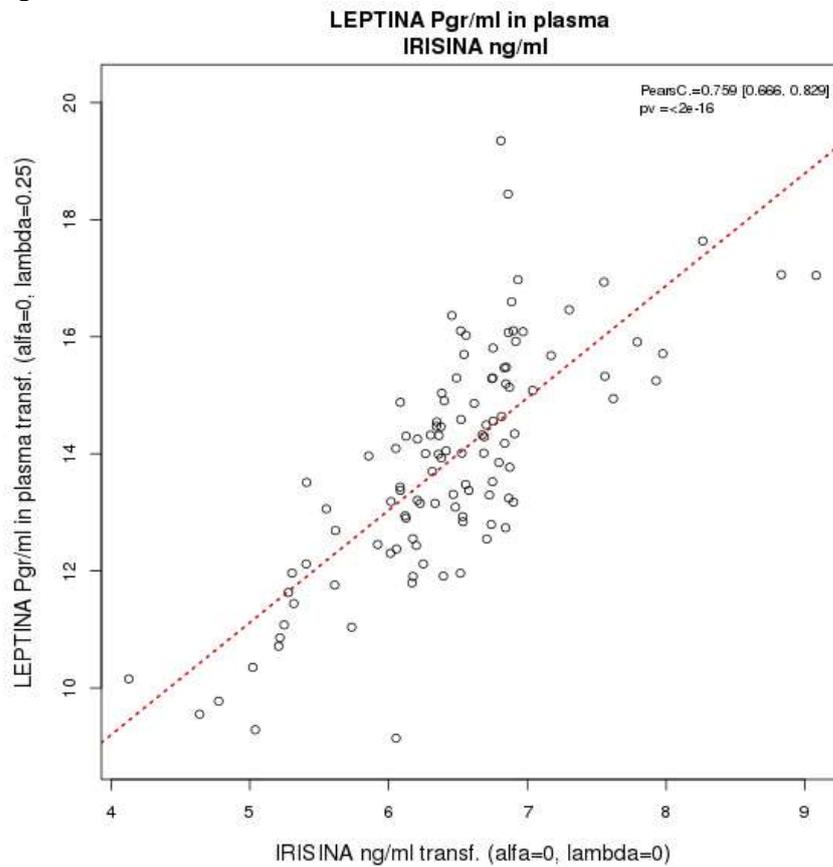


Tabla 6B. Relación de la irisina (ng/mL) en plasma y adipocitoquinas en líquido sinovial y en plasma.

	N(%) Median(IQR))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
Leptina LS pg/ml transf.	51300.000 (57100.000)	0.633 [0.501, 0.736]	5.72e-13
Adiponectina LS ng/ml transf.	1642.400 (1742.440)	-0.181 [-0.357, 0.007]	0.0590
Resistina LS pg/ml transf.	2180.130 (2961.057)	0.099 [-0.091, 0.281]	0.3080
Visfatina LS ng/ml transf.	1.560 (2.787)	0.179 [-0.010, 0.355]	0.0631
Osteopontina LS ng/ml transf.	63.190 (84.425)	0.054 [-0.135, 0.240]	0.5761
Omentina pg/ml transf.	3274.150 (4263.840)	-0.175 [-0.354, 0.017]	0.0733
Quemerina ng/ml transf.	106.425 (80.220)	0.078 [-0.115, 0.266]	0.4269
Irisina ng/ml transf.	682.150 (438.500)	0.709 [0.600, 0.793]	<2e-16
Leptina pg/ml en plasma transf.	37350.000 (28350.000)	0.797 [0.716, 0.857]	<2e-16
Adiponectina ng/ml en plasma transf.	13250.000 (11794.767)	-0.243 [-0.413, -0.058]	0.0108
Resisitina pg/ml en plasma transf.	2048.140 (1271.615)	-0.033 [-0.220, 0.156]	0.7341
Visfatina ng/ml en plasma transf.	3.810 (1.535)	-0.053 [-0.239, 0.137]	0.5855
Osteopontina ng/ml en plasma transf.	11.370 (6.933)	-0.122 [-0.303, 0.067]	0.2052
Omentina pg/ml en plasma transf.	25650.000 (23350.000)	-0.287 [-0.451, -0.105]	0.00244

Figura 4C

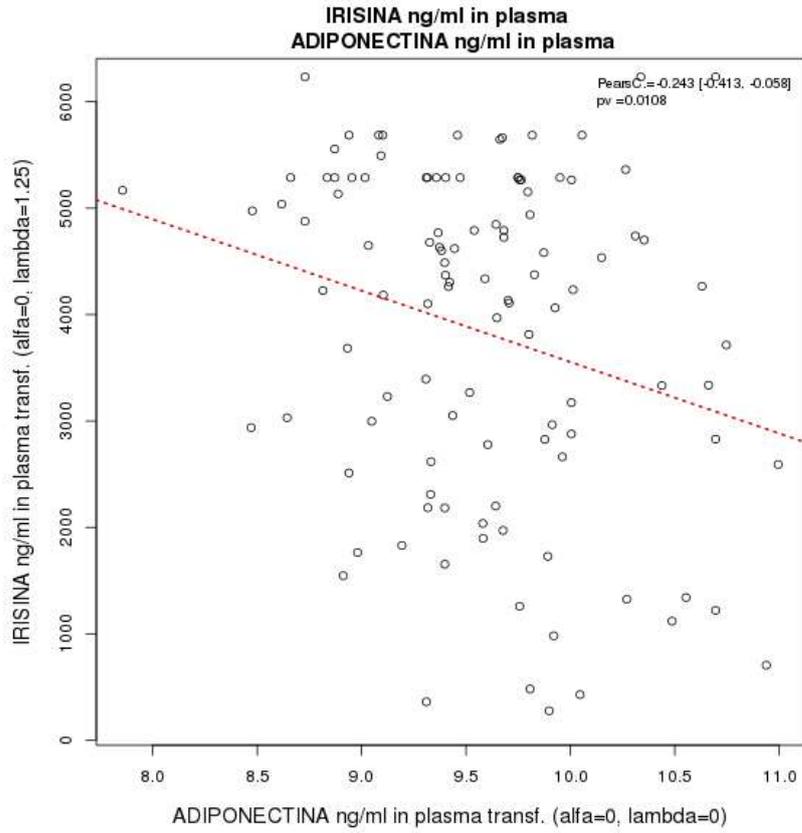


Figura 4D

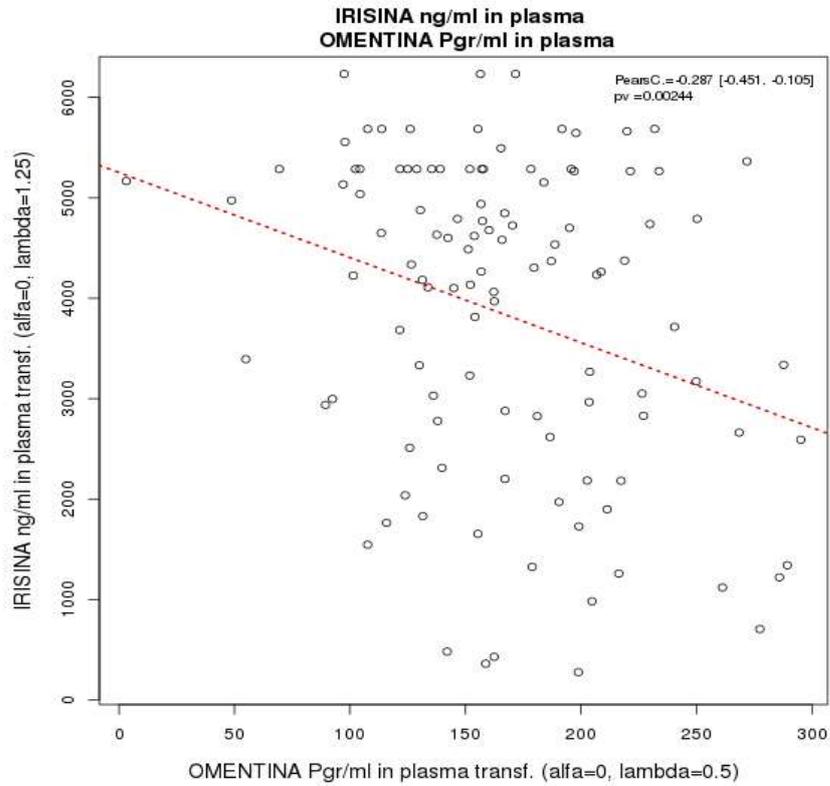


Tabla 7A. Análisis multivariante de factores asociados a niveles de irisina en líquido sinovial incluyendo kit, edad, tiempo de evolución, severidad radiológica, nivel de ejercicio y obesidad

	Groups	N(%) / Median(IQR)	Adj.Means / Part.Pearson Corr. [95%CI]	Coef. [95%CI]	Wald-pval	Corr.-pval	F-pval
Edad (a)		68.490 (11.068)	0.171 [-0.028, 0.356]	0.016 [-0.002, 0.033]	0.0847	0.0912	0.0847
Tiempo de evolución (m)		50.000 (75.000)	0.054 [-0.145, 0.249]	0.001 [-0.002, 0.004]	0.5852	0.5927	0.5852
Kellgren-Lawrence	1	15 (13.5%)	6.440 [6.165, 6.716]	0.006 [-0.179, 0.191]			0.9507
	2	45 (40.5%)	6.446 [6.307, 6.585]				
	3-4	51 (45.9%)	6.452 [6.275, 6.629]				
Nivel de ejercicio	Ninguno	50 (45.0%)	6.529 [6.320, 6.738]	Ref.			0.6279
	Esporádico	27 (24.3%)	6.401 [6.139, 6.663]	-0.128 [-0.477, 0.221]	0.4689		
	Regular	34 (30.6%)	6.366 [6.117, 6.615]	-0.163 [-0.515, 0.190]	0.3620		
IMC (Kg/m ²)		30.400 (6.200)	0.497 [0.332, 0.632]	0.085 [0.056, 0.114]	9.34e-08	1.68e-07	9.34e-08

Tabla 7B. Análisis multivariante de factores asociados a niveles de irisina en líquido sinovial incluyendo kit, edad, tiempo de evolución, severidad radiológica, nivel de ejercicio, obesidad y adipocitoquinas.

	Groups	N(%) / Median(IQR)	Adj.Means / Part.Pearson Corr. [95%CI]	Coef. [95%CI]	Wald-pval	Corr.-pval	F-pval
Edad (a)		68.528 (11.000)	0.001 [-0.216, 0.218]	0.000 [-0.015, 0.015]	0.9960	0.9961	0.9960
Tiempo de evolución (m)		49.500 (74.000)	0.107 [-0.112, 0.317]	0.001 [-0.001, 0.003]	0.3261	0.3379	0.3261
Kellgren-Lawrence	1	14 (13.7%)	6.502 [6.297, 6.708]	-0.022 [-0.160, 0.116]			0.7544
	2	40 (39.2%)	6.480 [6.379, 6.582]				
	3-4	48 (47.1%)	6.459 [6.329, 6.588]				
Nivel de ejercicio	Ninguno	47 (46.1%)	6.505 [6.342, 6.668]	Ref.			0.00962
	Esporádico	26 (25.5%)	6.227 [6.031, 6.422]	-0.278 [-0.551, -0.006]	0.0456		
	Regular	29 (28.4%)	6.642 [6.437, 6.847]	0.137 [-0.159, 0.433]	0.3593		
IMC (Kg/m2)		30.700 (7.050)	0.319 [0.109, 0.501]	0.042 [0.015, 0.070]	0.00279	0.00353	0.00279
PCRhs LS mg/ml transf		0.920 (0.980)	0.029 [-0.189, 0.245]	0.032 [-0.204, 0.267]	0.7901	0.7951	0.7901
Leptina LS pg/ml transf		52050.000 (59825.000)	0.681 [0.544, 0.782]	0.213 [0.163, 0.262]	5.7e-13	2.03e-12	5.7e-13
Adiponectina LS ng/ml transf		1644.965 (1908.735)	0.117 [-0.102, 0.326]	12.693 [-10.592,	0.2814	0.2933	0.2814

				35.978]			
Resistina LS pg/ml transf		2180.130 (3063.523)	0.254 [0.039, 0.447]	4.420 [0.770, 8.070]	0.0182	0.0212	0.0182
Visfatina LS ng/ml transf		1.510 (3.197)	-0.164 [-0.368, 0.055]	-0.098 [- 0.227, 0.030]	0.1316	0.1412	0.1316
Osteopontin a LS ng/ml transf		60.360 (81.670)	-0.070 [-0.283, 0.149]	-0.032 [- 0.132, 0.067]	0.5205	0.5306	0.5205
Omentina pg/ml transf.		3307.875 (4729.628)	0.042 [-0.177, 0.257]	0.038 [- 0.159, 0.235]	0.7018	0.7087	0.7018
Quemerina ng/ml transf		107.095 (80.095)	0.116 [-0.103, 0.325]	2.098 [- 1.791, 5.987]	0.2864	0.2982	0.2864

Tabla 8A. Análisis multivariante de factores asociados a niveles de irisina en plasma incluyendo kit, edad, tiempo de evolución, severidad radiológica, nivel de ejercicio y obesidad

	Groups	N(%) / Median(IQR)	Adj.Means / Part.Pearson Corr. [95%CI]	Coef. [95%CI]	Wald-pval	Corr.-pval	F-pval
Edad (a)		68.528 (11.099)	0.156 [-0.042, 0.342]	29.828 [-7.382, 67.039]	0.1149	0.1223	0.1149
Tiempo de evolución (m)		49.500 (75.000)	0.022 [-0.175, 0.217]	0.661 [-5.290, 6.612]	0.8261	0.8295	0.8261
Kellgren-Lawrence	1	15 (13.4%)	3786.837 [3202.380, 4371.295]	37.416 [-353.827, 428.659]			0.8499
	2	45 (40.2%)	3824.254 [3528.647, 4119.860]				
	3-4	52 (46.4%)	3861.670 [3488.417, 4234.923]				
Nivel de ejercicio	Ninguno	50 (44.6%)	4083.395 [3642.181, 4524.610]	Ref.			0.2102
	Esporádico	28 (25.0%)	3888.425 [3343.108, 4433.742]	-194.971 [-920.780, 530.838]	0.5953		
	Regular	34 (30.4%)	3431.034 [2902.559, 3959.508]	-652.362 [-1395.498, 90.774]	0.0847		
IMC (Kg/m ²)		30.400 (6.600)	0.458 [0.288, 0.601]	156.478 [96.886, 216.071]	9.95e-07	1.62e-06	9.95e-07

Tabla 8B. Análisis multivariante de factores asociados a niveles de irisina en plasma incluyendo kit, edad, tiempo de evolución, severidad radiológica, nivel de ejercicio, obesidad y adipocitoquinas

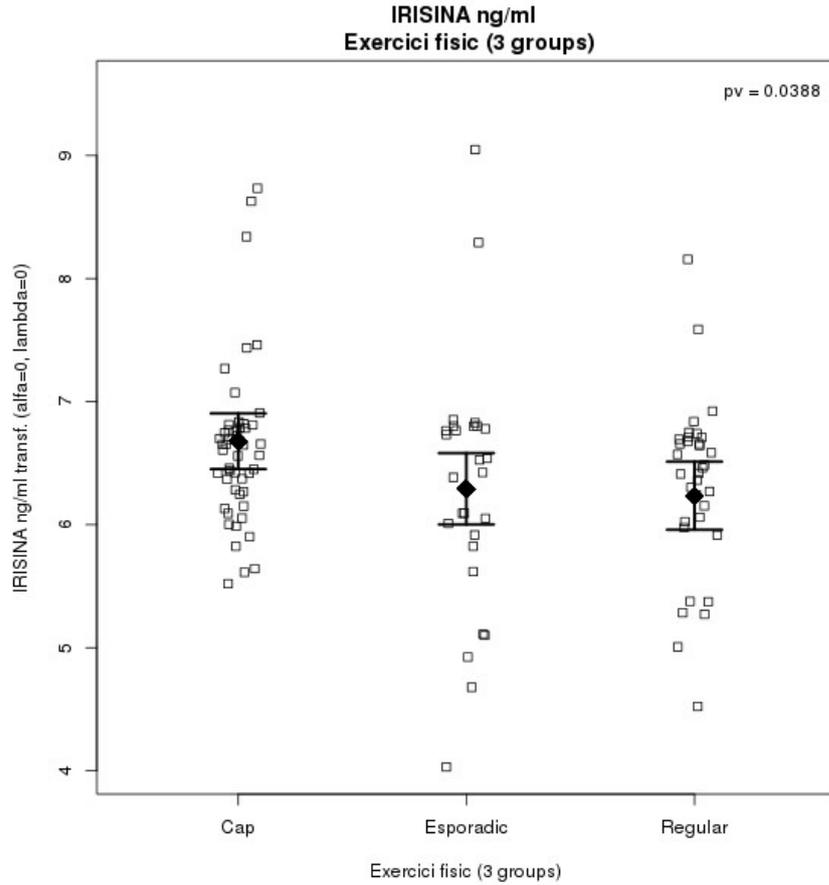
	Groups	N(%) / Median(IQR)	Adj.Means / Part.Pearson Corr. [95%CI]	Coef. [95%CI]	Wald-pval	Corr.-pval	F-pval
Edad (a)		68.528 (11.099)	0.014 [-0.191, 0.217]	1.934 [-27.062, 30.929]	0.8949	0.8972	0.8949
Tiempo de evolución (m)		49.500 (75.000)	-0.041 [-0.242, 0.165]	-0.843 [-5.078, 3.392]	0.6935	0.6997	0.6935
Kellgren-Lawrence	1	15 (13.4%)	3676.225 [3233.728, 4118.721]	120.561 [-182.140, 423.262]			0.4311
	2	45 (40.2%)	3796.786 [3587.895, 4005.677]				
	3-4	52 (46.4%)	3917.347 [3643.991, 4190.703]				
Nivel de ejercicio	Ninguno	50 (44.6%)	3876.423 [3564.780, 4188.065]	Ref.			0.7302
	Esporádico	28 (25.0%)	3701.651 [3315.395, 4087.907]	-174.772 [-690.198, 340.654]	0.5025		
	Regular	34 (30.4%)	3889.219 [3509.220, 4269.217]	12.796 [-525.383, 550.975]	0.9625		
IMC (Kg/m ²)		30.400 (6.600)	0.074 [-0.132, 0.274]	19.136 [-33.432, 71.703]	0.4717	0.4812	0.4717
PCRhs mg/ml en plasma transf		4.850 (5.772)	-0.128 [-0.323, 0.078]	-156.044 [-403.117, 91.030]	0.2130	0.2229	0.2130
Leptina pgr/ml en plasma transf		37350.000 (28350.000)	0.717 [0.601, 0.804]	584.516 [468.865, 700.168]	<2e-16	4.44e-16	<2e-16
Adiponectina ng/ml en plasma transf		13250.000 (11794.767)	0.027 [-0.178, 0.229]	68.370 [-455.049, 591.789]	0.7960	0.8002	0.7960
Resistina pg/ml en plasma		2048.140 (1271.615)	-0.134 [-0.329, 0.072]	-31266.013 [-	0.1910	0.2007	0.1910

transf				78394.097 , 15862.072]			
Visfatina ng/ml en plasma transf		3.810 (1.535)	-0.025 [-0.228, 0.180]	-320.265 [- 2919.450, 2278.920]	0.807 3	0.811 3	0.807 3
Osteopontin a ng/ml en plasma transf		11.370 (6.933)	-0.094 [-0.292, 0.112]	-1383.240 [- 4363.333, 1596.854]	0.359 1	0.369 5	0.359 1
Omentina pg/ml en plasma transf.		25650.000 (23350.000)	-0.174 [-0.364, 0.031]	-5.149 [-11.097, 0.799]	0.088 9	0.096 0	0.088 9

Tabla 9A: Relación de la irisina (ng/mL) en líquido sinovial con el nivel de ejercicio.

	N(%) Median(IQR))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
No ejercicio	50 (45.0%)	794.446 [633.630, 996.078]	0.0388
Ejercicio esporádico	27 (24.3%)	540.047 [404.250, 721.461]	
Ejercicio regular	34 (30.6%)	510.174 [386.935, 672.666]	

Figura 5A



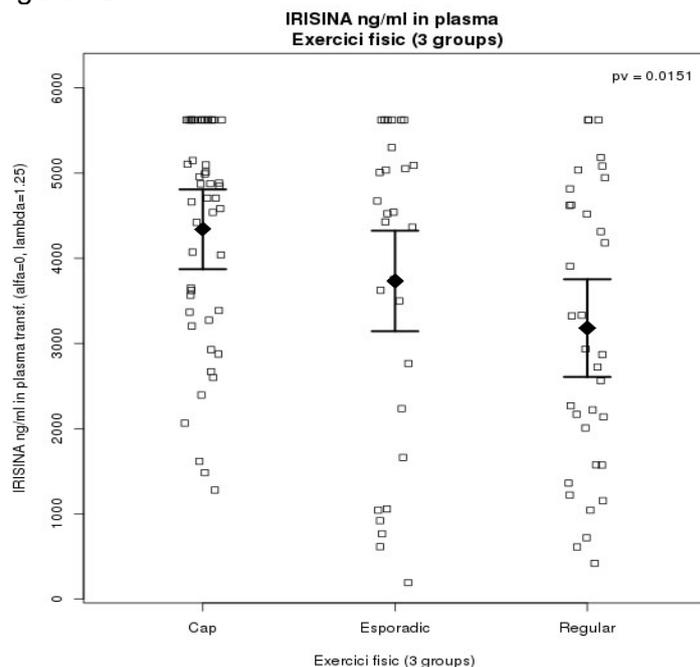
Pairwise p-values (adjusted by multiple comparisons)

	No ejercicio	Esporádico
Esporádico	0.0418 (0.1031)	
Regular	0.0224 (0.0575)	0.7764 (0.9563)

Tabla 9B: Relación de la irisina (ng/mL) en plasma con el nivel de ejercicio.

	N(%) Median(IQR))	Adj.Means / Pears.Corr [95%CI]	F pval
No ejercicio	50 (44.6%)	812.843 [741.949, 882.221]	0.0151
Ejercicio esporádico	28 (25.0%)	720.674 [627.960, 810.489]	
Ejercicio regular	34 (30.4%)	633.877 [540.716, 723.720]	

Figura 5B



Pairwise p-values (adjusted by multiple comparisons)

	No ejercicio	Esporádico
Esporádico	0.11682 (0.2580)	
Regular	0.00406 (0.0112)	0.1817 (0.3737)

Tabla 9C: Factores asociados a ejercicio según nivel de actividad física

	N(%) Median(IQR)	No ejercicio físico n=53 (46.1%)	Ejercicio esporádico n= 28 (24.3%)	Ejercicio regular n= 34 (29.6%)	Kruskal / Fisher / F pval
Obesidad	65 (56.5%)	37 (69.8%)	15 (53.6%)	13 (38.2%)	0.0146
IMC (Kg/m ²)	30.500 [29.500, 32.100]	31.600 [30.000, 33.600]	30.700 [26.500, 34.500]	29.300 [28.500, 31.300]	0.0490
Perímetro cintura (cm)	100.500 [98.500, 102.500]	105.000 [100.500, 110.000]	101.000 [95.500, 107.000]	96.250 [93.000, 100.000]	0.000484
% grasa	41.800 [41.200, 43.200]	43.200 [41.600, 45.300]	42.650 [38.800, 44.100]	40.350 [38.500, 41.400]	0.00777
MetS ATP-III	47 (40.9%)	28 (52.8)	9 (32.1)	10 (29.4)	0.0632
ATP si dLP	58 (50.4%)	37 (69.8)	10 (35.7)	11 (32.4)	0.00062
Dislipemia	55 (47.8%)	33 (62.3)	12 (42.9)	10 (29.4)	0.00894

ejercicio se realizó un análisis multivariante con irisina en este caso como variante dependiente, incluyendo las variables de confusión habituales y teniendo en cuenta la literatura médica, como son edad, tiempo de evolución de la enfermedad, grado radiológico (agrupando en afectación radiológica severa los grupos de score 3 y 4 dado el escaso tamaño muestral de este último), el nivel de ejercicio y la obesidad, así como el kit de análisis. Tras dicho análisis la única variable significativamente asociada a irisina fue la obesidad (Tabla 8A).



DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio provienen de una cohorte de mujeres con artrosis de rodilla, que por sus características de edad y medidas antropométricas es representativa de la de la mayoría de los pacientes con dicha enfermedad que se atienden en la práctica clínica habitual. Desde un punto de vista clínico se trata de una muestra de pacientes con artrosis de rodilla sintomática relativamente poco evolucionada (en el contexto de una enfermedad que es crónica) en cuanto a tiempo de enfermedad sintomática y con una moderada-severa afectación estructural desde un punto de vista radiológico (83% con Kellgren-Lawrence grado 2 ó 3). Sin embargo, a nivel sintomático se trata de pacientes con una importante severidad clínica, como se pone de manifiesto por presentar un índice de Lequesne con una puntuación media de 14 ± 5 puntos, indicativa de enfermedad severa a nivel de dolor y limitación funcional, con aproximadamente la mitad de los pacientes de la cohorte mostrando puntuaciones según el índice de Lequesne, de enfermedad muy severa o extremadamente severa. Es importante destacar además en relación a este hecho, que se trata de una cohorte de pacientes con artrosis de rodilla con derrame sinovial persistente y confirmado mediante una prueba de alta sensibilidad como es la ecografía, lo cual es considerado como un marcador subrogado de inflamación en artrosis; en este sentido es conocido que tanto la presencia de derrame sinovial como la presencia de inflamación sinovial se asocian a mayores niveles de dolor(186, 187) y de limitación funcional(188), lo cual podría justificar la importante afectación sintomática, a pesar de ser una cohorte de artrosis de rodilla de relativa corta duración.

Un resultado a resaltar es el hallazgo de que los pacientes con artrosis bilateral de rodillas presentaban niveles plasmáticos de irisina mayores que los pacientes con artrosis unilateral (758 vs. 718 ng/mL, ns), y también los pacientes con artrosis concomitante de manos comparado con los que no presentaban artrosis en dicha

localización (770 vs. 686 ng/mL, = 0.086). Ambos resultados permiten especular con que los niveles plasmáticos de irisina podrían reflejar la “carga” artrósica de los pacientes.

7.1. Irisina y severidad clínica: relación con dolor y afectación funcional

Un hallazgo destacable del presente estudio es la relación que se ha encontrado entre los niveles de irisina en líquido sinovial y la severidad clínica medida por el índice algofuncional de Lequesne. Dicha relación además seguía una cierta correlación en relación con la magnitud de la gravedad, puesto que se observaron niveles más altos cuanto más severa era la afectación clínica, que además mostró significación estadística.

Similares resultados se observaron con los niveles de irisina en suero, que también mostraron una asociación positiva con la severidad clínica, con niveles mayores de irisina cuanto mayor era el índice de Lequesne. Sin embargo, aunque probablemente esta asociación se puede considerar de significación clínica, en el caso de la irisina en suero esta asociación no fue estadísticamente significativa (aunque sí existía una tendencia a la significación).

Este es probablemente el hallazgo más relevante del presente estudio, siendo además el primer estudio en que se estudia la asociación de irisina con la severidad clínica. Aunque no existen datos en la literatura que apoyen este hallazgo, desde un punto de vista teórico se podría hipotetizar sobre un potencial efecto directo de los niveles de irisina sobre la severidad clínica, o indirecto por su asociación con otros factores que se sabe que se encuentran relacionados con la severidad de la artrosis de rodilla como son la obesidad(155, 156), la presencia de inflamación, o con marcadores de inflamación(189, 190) o adipocitoquinas(191, 192). El hecho de que la artrosis es una enfermedad localizada y no sistémica podría justificar la mayor significación de los hallazgos a nivel de líquido sinovial. En todo caso, los diferentes estudios que analizan

niveles de irisina en relación con los diferentes factores potencialmente influyentes arriba mencionados están realizados en plasma, por lo que no se conoce si la relación de la irisina en líquido sinovial correlaciona con obesidad de la misma manera.

En general, la mayoría de los estudios en humanos han encontrado una asociación positiva de los niveles plasmáticos de irisina con obesidad(24, 48, 49, 88). Sin embargo, no existe un consenso al respecto puesto que existen también algunos estudios que no han encontrado dicha asociación de irisina con obesidad(43, 93) o incluso una asociación negativa(25, 54).

En relación al componente inflamatorio, a nivel experimental la irisina se asocia a un efecto antiinflamatorio(61) a través de diferentes mecanismos, como la reducción de la expresión de marcadores inflamatorios en macrófagos, su reclutamiento y migración y la estimulación del paso de macrófagos tipo M1 a M2(59), así como la supresión de la activación proinflamatoria de los macrófagos(32, 121), o mediante la inhibición de NFkB(122). Mazur-Bialy et al(32) han demostrado que la irisina a altas concentraciones reduce significativamente los niveles de las proteínas TLR4 y MyD88, así como la fosforilación de NFkB, lo cual conduce a una reducción en la liberación de mediadores proinflamatorios como IL1 β , TNF α , IL6 o MCP-1 entre otros. Otros estudios han encontrado una asociación positiva de irisina con citoquinas antiinflamatorias como IL-10 o asociación inversa con TNF α (7). Sin embargo, en estudios que han analizado hs-PCR como marcador de inflamación y su relación con irisina, tanto a nivel poblacional(193) como en pacientes con inflamación severa, se ha encontrado una asociación positiva entre ambas(194). Como mecanismo de esta asociación positiva se ha comunicado que las citoquinas proinflamatorias estimulan una importante activación de PGC-1(195), lo cual induciría la secreción de irisina en grasa parda. Dicho mecanismo parece estar presente en pacientes con inflamación severa con un importante estado hipercatabólico(196, 197).

La complejidad aumenta si tenemos en cuenta que la obesidad también se asocia a una inflamación sistémica de bajo grado(131), la cual se asocia a mayores niveles de

PCR(198) y de citoquinas inflamatorias(199) y adipocitoquinas(200).

Por último, también cabría tener en cuenta la hipótesis contraria, es decir, que la obesidad y/o la inflamación y/o las adipocitoquinas no solo influirían en la severidad clínica de la artrosis de rodilla, sino que podrían influir en la concentración de irisina a nivel articular y/o sistémico.

Es por ello que tras observar una relación entre los niveles de irisina en líquido sinovial y la severidad clínica medida por el índice de Lequesne, y para esclarecer la influencia de la irisina en dicha asociación, se realizó un análisis multivariante incluyendo variables de confusión habituales como son edad, tiempo de evolución de la enfermedad, grado radiológico y la obesidad. Se incluyó también el nivel de ejercicio dado que es un factor que podría influir en los niveles de irisina al tratarse de una mioquina, así como los kits de análisis. Tras dicho análisis multivariante la irisina no se mostró estadísticamente asociada a la severidad clínica y solo el grado radiológico y el nivel de ejercicio se mostraron relacionadas con el índice de Lequesne. La asociación del grado de afectación estructural, aunque medida por un método poco sensible al cambio como es la radiología simple, es esperable que se asocie a afectación sintomática(201, 202), si bien hay extensa literatura al respecto de la discrepancia clínico-radiológica en artrosis de rodilla(203, 204) y que es también frecuente observar en práctica clínica. Respecto al ejercicio, su interpretación resulta difícil; los pacientes con mayor nivel de ejercicio tienen menor severidad sintomática, siendo difícil, al tratarse de un estudio transversal, establecer una relación causa-efecto. Es más probable que pacientes con menor nivel de dolor y menor nivel de discapacidad sean los que hacen mayor actividad física o ejercicio, y al revés en aquellos casos más sintomáticos; sin embargo, existe extensa literatura al respecto del efecto beneficioso del ejercicio sobre la función y el dolor de los pacientes con artrosis(165, 167, 205, 206, 207). Y en el caso opuesto, sea por limitación funcional asociada a la enfermedad(208) o por sedentarismo(209), la falta de ejercicio se asocia a mayor gravedad de la artrosis de rodilla.

Es probable que la relación entre irisina y severidad clínica en la artrosis de rodilla en

este estudio se encuentre ligada a la obesidad. Cuando en el modelo de análisis multivariante se extraía la obesidad del modelo la irisina presentaba una asociación estadísticamente significativa con la severidad clínica, probablemente indicando que el papel que juega la irisina a nivel sinovial está muy relacionado con la obesidad en sí, o a factores asociados a la misma. Es posible especular en el sentido de que la grasa intraarticular (especialmente a partir de la grasa de Hoffa que es el mayor de estos depósitos en rodilla) secreta una mayor cantidad de irisina en pacientes con sobrepeso/obesidad; en este sentido se ha evidenciado que la grasa de Hoffa es capaz de secretar diversas adipocitoquinas y otros mediadores proinflamatorios en pacientes con artrosis de rodilla(210, 211). Otra posibilidad sería que dicha secreción asociada a artrosis se produzca a nivel sistémico, sea a partir de la grasa visceral u otros depósitos adiposos en el organismo; más improbablemente podría ser de origen muscular, pues los pacientes con artrosis de rodilla son por lo general sedentarios y precisamente presentan frecuentemente hipotrofia muscular, especialmente de cuádriceps, que es el músculo en el que se ha evidenciado una mayor producción en relación al ejercicio(212, 213, 214).

Finalmente, en cuanto a la valoración de los niveles de irisina en plasma sobre la severidad clínica, y siguiendo la misma metodología descrita en el caso de la irisina en líquido sinovial, el análisis multivariante permite concluir que solo el peso, el ejercicio y la severidad radiológica quedaron como variables asociadas sobre la severidad clínica con significación en el modelo. En este caso, la irisina continuó sin ser estadísticamente significativa incluso cuando no se incluyó la obesidad en el modelo, sugiriendo que solo la irisina sinovial, aunque indirectamente asociada a obesidad, podría tener alguna relevancia clínica en pacientes con artrosis de rodilla.

7.2. Irisina y severidad radiológica

En el presente estudio no se pudo establecer una relación entre el grado de afectación

radiológica y los niveles de irisina ni en plasma ni en líquido sinovial. No obstante, sí se pudo Sin embargo, sí se pudo observar que si se excluía el grado de afectación radiológica KL 1 (afectación dudosa) sí se observaban mayores niveles de irisina en los pacientes con mayor grado de afectación radiológica, encontrándose además los niveles más elevados en los pacientes con estadio más avanzado (grado 4), si bien el escaso número de pacientes con dicha afectación hace imposible establecer conclusiones.

Solo existe un estudio publicado hasta la fecha en el que se han investigado los niveles de irisina y su relación con la severidad radiológica, también medida mediante la escala de Kellgren-Lawrence(178). En dicho estudio, Mao et al estudiaron mediante ELISA los niveles de irisina, tanto en líquido sinovial como en plasma en 215 hombres y mujeres con artrosis de rodilla y su relación con la severidad radiológica medida por el score radiológico de Kellgren-Lawrence, comparando los niveles plasmáticos con controles sanos. Los niveles de irisina en plasma en pacientes con artrosis de rodilla fueron significativamente menores que en los controles sanos. El citado trabajo encontró que los niveles de irisina eran menores en suero y líquido sinovial en grados avanzados (Kellgren-Lawrence grado 4) comparados con los menos avanzados (grados 2 y 3); cuando compararon los pacientes con Kellgren-Lawrence grado 3 con los que presentaban grado 2 también observaron niveles menores en los pacientes con grado 3. Los autores concluyeron que los niveles de irisina en suero y en líquido sinovial de pacientes con artrosis de rodilla correlacionaron inversamente con la severidad radiológica. Los resultados del estudio de Mao et al irían en sentido contrario a los observados en el presente estudio. Sin embargo, ambos estudios presentan diferencias en la población a estudio que dificultan hacer comparaciones. Aparte de diferencias étnicas que se ha observado pueden tener cierta influencia, la edad media en el estudio de Mao et al es casi una década menor y aproximadamente un 35% de los pacientes eran hombres, a diferencia del realizado en este trabajo en el que la edad media era superior y está compuesto solo por mujeres. Tanto edad como sexo son factores que

pueden influir diferencialmente en los niveles de irisina. Otra diferencia importante es que los pacientes del estudio de Mao et al, presentan un IMC medio dentro del rango del normopeso (si bien en el límite alto), cuando todos los pacientes de la cohorte del presente estudio presentaban sobrepeso y más de la mitad presentaban IMC compatible con obesidad; si bien es difícil determinar en qué sentido, pues los datos en la literatura son controvertidos, el IMC parece ser un claro factor influyente. En el estudio de Mao et al, los pacientes con artrosis de rodilla y sobrepeso siguen presentando menores niveles de irisina plasmática que los controles con sobrepeso. Llama también la atención que los pacientes con artrosis presentaban menores niveles de irisina en plasma que los controles, quizás reflejando el estado de la masa muscular de los pacientes con artrosis o una mayor limitación funcional. Por último, pero resulta un dato capital, el estudio de Mao et al solo incluye pacientes con artrosis establecida (Kellgren-Lawrence grado ≥ 2), y un 27% presentaban grado 4, a diferencia del nuestro que incluía grado 1 (artrosis probable pero radiológicamente dudosa) y muy escasa proporción de grado 4 (3.5%). Por lo tanto, podemos concluir que las poblaciones de estos estudios no son comparables y que los resultados en relación con la irisina y la afectación radiológica no son concluyentes.

Por último, y al igual que se observó con los niveles en líquido sinovial, a nivel radiológico tampoco existía relación con los niveles plasmáticos de irisina. También cuando se analizan los grados con afectación estructural definida (2-4) se observa que a mayor severidad radiológica se corresponden mayores concentraciones plasmáticas de irisina, si bien de forma menos llamativa que los resultados observados en líquido sinovial y sin mostrar tendencia a la significación estadística.

En resumen, aunque se observó una tendencia a mayores niveles de irisina relacionados con el daño estructural, los datos disponibles no permiten establecer una asociación directa, y posiblemente este hallazgo sea un efecto relacionado con otros factores más relevantes como la obesidad, aunque esta observación precisa de un mayor seguimiento y confirmación en otras cohortes.

7.3. Irisina, obesidad y alteraciones metabólicas

En nuestro estudio los niveles de irisina, tanto en líquido sinovial como en plasma, mostraron una alta correlación positiva con el IMC, con el porcentaje de grasa corporal y con medidas de obesidad central como perímetro de cintura. De forma general la mayoría de estudios han mostrado una asociación positiva de irisina con obesidad(7, 24, 49, 90) tal como se evidencia en los resultados de nuestro estudio. Sin embargo, existe discrepancia al revisar la literatura médica, con algunos estudios que han observado una asociación negativa(25, 54) o ningún tipo de asociación(43, 93). Se sabe, como se ha expuesto con anterioridad, que la secreción de irisina en relación con la obesidad puede estar influenciada por el sexo; Huerta et al(92) observaron en una muestra similar a la de nuestro estudio que no existía correlación entre los niveles de irisina e IMC en mujeres con sobrepeso u obesidad, pero sí observaron una disminución de los niveles de irisina cuando se producía una pérdida ponderal, concepto que refuerza la asociación entre obesidad e irisina; o que bajo circunstancias de sobrepeso relevante existe relación entre la irisina y las medidas antropométricas.

La artrosis de rodilla se encuentra muy relacionada con la presencia de obesidad, y la muestra de pacientes del presente estudio está compuesta por pacientes con sobrepeso y obesidad. Es altamente probable que gran parte de las asociaciones observadas entre irisina y alteraciones clínicas o de laboratorio se encuentren relacionadas o ligadas a la obesidad, especialmente en plasma, tal como se ha observado al incluir o excluir el IMC en el análisis multivariante. Esta relación puede no estar tan clara en el caso de las asociaciones observadas en líquido sinovial, aunque de forma indirecta se puede argumentar que también puede existir esa misma relación puesto que en un estado de obesidad también existe una mayor adiposidad y actividad metabólica (secreción de adipocitoquinas y otros mediadores) en grasa subcutánea o en otros depósitos, como los que existen especialmente a nivel de rodilla (grasa de Hoffa).

Sin embargo, los niveles elevados de irisina en obesidad podrían no estar en relación

únicamente con la mayor cantidad de grasa y la consiguiente mayor secreción de irisina derivada del tejido adiposo. Algunos autores proponen que pudiera tratarse de un mecanismo de compensación, puesto que una de las funciones de la irisina es aumentar el consumo de energía y mejorar la sensibilidad a la insulina, tal como proponen Perakakis et al(31). Otra explicación alternativa, tal como sugieren Hut et al(97), es que de modo análogo a lo que sucede en la diabetes tipo 2, asociada también especialmente a obesidad, existe en obesidad una situación de “resistencia a la irisina” y esta irisin-resistencia causaría una hiperirisinemia, del mismo modo que existe hiperinsulinemia en diabetes tipo 2 o hiperleptinemia asociada a obesidad. Esta hipótesis se ve francamente reforzada por la estrecha relación de la irisina con la leptina en nuestro análisis en mujeres con artrosis de rodilla.

Aparte de la obesidad, en el presente estudio también se analizaron otros factores de riesgo cardiovascular. En dicho análisis se observó que los pacientes con hipertensión mostraron mayores niveles de irisina en líquido sinovial, próximos a la significación estadística, encontrándose en el caso de la irisina plasmática una tendencia similar, aunque más alejados de la significación estadística. Se ha observado que los niveles de irisina en plasma pueden ser un factor de riesgo de hipertensión e incluso para complicaciones asociadas a hipertensión, y que dicha asociación es independiente de la obesidad(215). En este estudio puede llamar la atención que la asociación con hipertensión parece ser mayor a nivel local, pues en el caso de los niveles de irisina en líquido sinovial la relación es casi estadísticamente significativa. En pacientes con artrosis de rodilla hay una mayor frecuencia de hipertensión arterial respecto a la población general(216), lo cual estaría relacionado con la asociación a obesidad y otros factores de riesgo comunes. De todos modos, se han propuesto diversos mecanismos de asociación entre la hipertensión arterial y la artrosis de rodilla, independientes del factor sistémico, como serían el menor aporte de nutrientes y la isquemia por reducción del flujo en los pequeños vasos, ambos a nivel del hueso subcondral(217), que es quien ejerce las funciones de nutrición y remodelado del cartílago.

En cuanto a la relación de la irisina con las alteraciones del metabolismo de la glucosa, en el presente estudio también los pacientes diabéticos presentaban mayores niveles de irisina (si bien más alejados de la significación estadística que en el caso de la hipertensión arterial). De hecho, los niveles de hemoglobina glicosilada presentaban una asociación positiva con los niveles de irisina con una tendencia que se aproxima a la significación estadística. Probablemente el escaso número de pacientes con diabetes en nuestra muestra hace que ambas relaciones no sean estadísticamente significativas. En los primeros estudios de irisina se observaron efectos potencialmente favorables sobre la homeostasis glucémica(31) y la sensibilidad a la insulina(1), promoviendo el gasto energético, la captación de glucosa y la glucogenolisis, y por otro lado disminuyendo la glucogenogénesis(95). Aunque algún estudio no ha observado asociación entre los niveles de irisina y glucosa(98), en general los niveles de irisina se asocian positivamente a los niveles basales de glucosa(23, 24, 92) y a resistencia a la insulina(89, 218), especialmente en pacientes con obesidad(48, 88). Probablemente debido a su relación con la resistencia a la insulina observamos también en este estudio una relación positiva y estadísticamente significativa con los niveles de insulina, lo cual está en consonancia con diversos estudios previos(78, 91). Los pacientes con artrosis de rodilla también presentan una mayor prevalencia de diabetes y de resistencia a la insulina(219), lo cual estaría relacionado con la obesidad y otros factores comunes y posiblemente por mecanismos locales ligados a la artrosis, como el efecto negativo de la glucosa sobre la matriz extracelular del cartílago(220), o por acción negativa directa de la glucosa promoviendo el catabolismo del condrocito(221). Es muy probable que la asociación observada en nuestros pacientes entre irisina y las alteraciones del metabolismo de la glucosa se deban más bien a la coexistencia de efectos sistémicos relacionados con la obesidad y la resistencia a la insulina. No existiendo una subpoblación control de artrosis sin obesidad resulta difícil hipotetizar sobre un efecto directo de la irisina, más aun teniendo en cuenta que la relación de la irisina con la gravedad clínica de la artrosis de rodilla y otros factores de riesgo cardiovasculares está

asociada a la obesidad, por lo que es difícil separarlo en nuestros resultados.

En nuestro estudio no se encontró asociación entre los niveles de irisina y la presencia de dislipemia en general, ni con los niveles de triglicéridos o colesterol total o sus fracciones. A este respecto, los estudios entorno a dichas asociaciones en humanos son de hecho discordantes en la literatura(88, 105, 109).

Existen estudios en que la irisina se asocia de forma favorable al perfil lipídico, como una relación inversa con los niveles de colesterol total(116) o LDL o apolipoproteína B(119), o positiva con fracciones de colesterol HDL(222) y VLDL(117). Por otro lado, existen estudios en que irisina se ha asociado a dislipemia o un perfil lipídico negativo(23, 88, 105). Tal como se ha referido anteriormente en nuestra cohorte no se evidenció relación entre dislipemia e irisina, pero casi la mitad (48%) de los pacientes presentaba dislipemia, superior incluso a la observada por nuestro grupo en pacientes con artrosis no seguidos en el hospital (30%), lo cual puede ser indicativo de los pacientes con artrosis de rodilla en seguimiento hospitalario, no solo tienen un mayor componente sintomático y/o de inflamación, sino también un mayor componente de alteración metabólica. La asociación de dislipemia y artrosis de rodilla puede producirse a nivel sistémico por su asociación a obesidad y a mayor secreción de mediadores inflamatorios por el tejido adiposo, pero también se han postulado mecanismos de lesión local por efecto tóxico de los lípidos sobre el condrocito, como se ha evidenciado en estudios experimentales(223) y en modelos animales(224, 225).

Finalmente, se analizó la posible relación entre los niveles de irisina y la presencia de síndrome metabólico. El síndrome metabólico puede definirse como la conjunción de varias enfermedades o factores de riesgo cardiovascular en un mismo individuo y que aumenta la posibilidad de padecer una enfermedad cardiovascular, resultando dicho riesgo superior al que presentaría de forma individualizada con cada uno de dichos factores (obesidad, hipertensión arterial, alteraciones del metabolismo de la glucosa y del metabolismo lipídico); obesidad central y resistencia a la insulina son características claves del síndrome metabólico. Puesto que todos estos factores son altamente

prevalentes en los pacientes con artrosis de rodilla es lógico que estos pacientes presenten una alta prevalencia de síndrome metabólico(226). El síndrome metabólico se asocia además a un estado proinflamatorio sistémico(227, 228), y a nivel local a una mayor afectación sintomática y funcional(229).

En nuestro estudio se encontró una relación positiva significativa de los niveles de irisina con síndrome metabólico, observándose además una clara linealidad con el número de criterios de síndrome metabólico que acumulan los pacientes. En cuanto a la literatura médica, de nuevo como en otros aspectos relacionados con la irisina, las distintas publicaciones al respecto muestran resultados diversos. La mayoría de los estudios encontraron una relación positiva. Park et al(88) observaron un riesgo incrementado de síndrome metabólico en pacientes con niveles altos de irisina, sea por una mayor secreción por parte del tejido adiposo o del músculo, o como se ha mencionado anteriormente por efecto compensatorio para superar una resistencia subyacente a la irisina en estos pacientes. Otros grupos han observado también una asociación positiva entre síndrome metabólico e irisina(65, 78, 98). En el estudio que sustenta el presente trabajo no solo se observó asociación significativa entre irisina y síndrome metabólico, sino además que los niveles de irisina aumentaron de forma lineal con el número de criterios de síndrome metabólico que presentaban los pacientes, lo cual podría sugerir que dichos niveles se relacionan con la “carga metabólica” del paciente. Tal relación ha sido observada también en estudios con leptina(230). Dada la importante asociación entre irisina y leptina nuestro estudio se pueden considerar consistentes estos datos, al menos en esta cohorte de pacientes con artrosis de rodilla

7.4. Irisina y parámetros inflamatorios

Un porcentaje importante de pacientes con artrosis presenta inflamación sinovial (sinovitis) en estudios por artroscopia(231), observándose características similares a la sinovitis de enfermedades reumatológicas inflamatorias clásicas, aunque con menor

grado de infiltración celular(231, 232). Aparte de la sinovitis, incluso a nivel sistémico puede existir en muchos pacientes una inflamación de bajo grado(233, 234), con mayores niveles circulantes de citoquinas inflamatorias(235). La presencia de sinovitis en artrosis tiene una relevancia crucial a nivel sintomático(235), especialmente en cuanto a intensidad del dolor(231, 236), y se ha demostrado que es un factor de mayor y más rápida progresión estructural(237). Según varios autores, la inflamación local en artrosis de rodilla parece estar ligada a la presencia de anomalías metabólicas en estos pacientes(160, 238).

Siguiendo no esta línea argumental, en muchos pacientes con artrosis de rodilla se ha evidenciado un cierto grado de inflamación sistémica(239), siempre considerada de bajo voltaje comparado con otras patologías, reumáticas o de otro tipo, donde si observamos un mayor componente de inflamación general. Sin embargo, la artrosis se considera una patología local, aunque pueda tener repercusiones sistémicas y a su vez verse influida por alteraciones sistémicas, especialmente metabólicas. Por dicho motivo, es lógico pensar que la inflamación asociada a la artrosis sea más evidente a nivel local. Clásicamente, a nivel local la inflamación en artrosis de rodilla suele asociarse clínicamente a la presencia de derrame articular; no obstante, la exploración física (incluso cuando es realizada por clínicos experimentados) es menos sensible para la detección del derrame articular que otras pruebas como ecografía(240) o RMN. La ecografía es una herramienta disponible en buena parte de las consultas de reumatología y posee una sensibilidad para la detección de derrame equivalente a la RMN, que aparte de la artroscopia, se considera el patrón oro a nivel de imagen. La ecografía es una técnica más disponible, rápida y más eficiente, y permite medir la cantidad de derrame articular, así como la presencia y grosor de la hipertrofia, tal como se ha realizado en este estudio(241), cuyas medidas están estandarizadas y se han demostrado reproducibles(242).

En el presente trabajo, cuando se investigó la relación entre irisina y los diversos parámetros inflamatorios analizados en el estudio, no se halló relación entre los niveles

de irisina en líquido sinovial ni en plasma con las medidas ecográficas de inflamación articular como son el grado de derrame articular o el grado de hipertrofia sinovial. Sin embargo, cuando se analizaron los marcadores analíticos de inflamación (PCR, TNF α e IL-6) en líquido sinovial y en suero, se encontró una relación positiva entre los niveles de irisina en líquido sinovial y los niveles de hs-PCR en líquido sinovial. Por el contrario, los niveles plasmáticos de irisina no se encontraron relacionados con ningún parámetro inflamatorio, ni ecográfico, ni analítico.

Tal como se ha mencionado, el único hallazgo estadísticamente significativo en este estudio fue la relación positiva entre los niveles sinoviales de irisina con los niveles sinoviales de hs-PCR. No se encontró dicha relación en plasma, a pesar de que Buscemi et al(193) sí comunicaron una correlación positiva entre los niveles de irisina y la PCR en plasma a nivel poblacional. Siendo la PCR un reconocido y sensible marcador de actividad inflamatoria, se podría interpretar que la irisina también podría reflejar indirectamente dicha inflamación. Siendo la artrosis como hemos dicho una enfermedad local en la que predomina la inflamación local sobre la sistémica se explicaría que esta relación únicamente se produzca en líquido sinovial y no a nivel sistémico. De hecho, algunos autores(243, 244), postulan que los biomarcadores moleculares obtenidos a partir de líquido articular podrían ser más sensibles para valorar la afectación articular o detectar cambios a nivel de cartílago o membrana sinovial dado su íntimo contacto con los diferentes tejidos articulares y reflejarla severidad del proceso inflamatorio articular(245). En el presente estudio se hallaron niveles elevados de hs-PCR sinovial en relación al daño estructural al borde de la significación estadística. En el único estudio ya mencionado sobre irisina en pacientes con artrosis, Mao et al(178) también encontraron niveles de PCR en sangre más elevados en relación con el daño estructural, pero no en líquido sinovial, siendo mayores los niveles de PCR conforme mayor afectación estructural presentaban los pacientes. Este mismo patrón se observa en nuestros pacientes con la PCR circulante cuando evaluamos solamente los pacientes con artrosis radiológica definida, es decir, con grados 2 a 4. No existen por lo tanto

estudios previos con los que contrastar nuestro hallazgo. La hs-PCR, si bien es un marcador inespecífico de inflamación y por lo tanto no adecuada para fines diagnósticos, sí parece tener significación clínica en artrosis(246) e incluso implicaciones pronósticas, habiéndose encontrado relacionada con la progresión de la enfermedad en varios estudios(247, 248). Pearle et al observaron incluso una correlación positiva entre los niveles de hs-PCR y la infiltración por células inflamatorias de la membrana sinovial a nivel histológico(234); en dicho estudio los autores no analizaron hs-PCR en líquido sinovial, pero de forma interesante sí lo hicieron con IL-6, obteniendo resultados significativamente mayores que los niveles plasmáticos de IL-6.

Cabría pensar hasta qué punto la hs-PCR que hemos detectado en nuestro estudio refleja la inflamación intraarticular, y no la inflamación sistémica, por ejemplo, asociada a la obesidad(249, 250). Se sabe que la PCR se sintetiza fundamentalmente en hígado, típicamente en el contexto de respuesta de fase aguda modulada por citoquinas proinflamatorias como IL1, TNF α y fundamentalmente por IL-6, que parece ser su principal regulador(251, 252). Sin embargo, se ha demostrado que PCR puede ser sintetizada *in situ* por parte de células endoteliales en contexto de hiperleptinemia(253) (como presentan muchos pacientes con obesidad) y también es expresada por los adipocitos en respuesta a mediadores inflamatorios(254). Aunque no existen datos en la literatura para corroborar nuestros hallazgos, desde un punto de vista teórico podríamos hipotetizar la producción local en el caso de la artrosis de rodilla, puesto que en dicha articulación existen varios depósitos de tejido adiposo, uno de ellos de relativo gran tamaño y conocida fuente de adipocitoquinas y otros mediadores inflamatorios como es la grasa infrapatelar o grasa de Hoffa. En este sentido, diversos estudios han demostrado que la grasa de Hoffa no es un tejido inerte cuyas funciones únicas son las de soporte anatómico o de reserva energética como se había postulado clásicamente, sino que puede tener funciones endocrinas o paracrinas(255, 256), modificar el fenotipo macrofágico en situación de inflamación(257) y secretar mediadores inflamatorios(258) cuya acción se ejerce sobre la sinovial e incluso el cartílago articular(210). Aparte del

hecho de que la PCR se pueda sintetizar in situ, existen estudios en que se ha observado que sus funciones biológicas van más allá de ser un reflejo de la actividad inflamatoria. Du Clos et al(259) demostraron que la PCR presenta importantes funciones inmunomoduladoras, especialmente relacionadas con la respuesta inmune innata y relacionadas con la lesión tisular, con capacidad de activar el sistema de complemento. Parvizi et al han especulado con que, por el papel fisiológico de la PCR a nivel local mediante la activación del sistema de complemento para eliminar células muertas, serían esperables niveles de PCR mayores en el origen del proceso inflamatorio que a nivel sistémico(260).

Así pues, no es descartable que la irisina pudiera estar relacionada con el grado de inflamación a nivel articular por su correlación con PCR, quizás precisamente por producción de irisina a partir del tejido adiposo local. En todo caso, dicha relación o bien sería directa, o bien indirecta relacionada con otras moléculas o células inflamatorias distintas de los marcadores clásicos de inflamación como IL-6 o TNF α . Si bien es conocido que el tejido adiposo es una fuente importante de irisina(7, 44), en el caso de la artrosis queda por confirmar o descartar en futuros estudios.

7.5. Irisina y adipocitoquinas

En este estudio se evaluaron los niveles en líquido sinovial y suero de las principales adipocitoquinas. La irisina, por su doble secreción a nivel muscular y también por el tejido adiposo es también considerada por muchos autores como una adipocitoquina.

En nuestro estudio los niveles de irisina en líquido sinovial y en plasma mostraron un muy alto índice de correlación entre sí. En el estudio de Mao et al(178), a pesar de que se estudiaron tanto los niveles de irisina a nivel sinovial como plasmático, no se evaluó la posible relación de los niveles de irisina en ambos compartimientos (o al menos no se menciona en la publicación). En el caso de la artrosis, se ha demostrado que el ejercicio es capaz de incidir en la concentración de adipocitoquinas(261), por lo que es

de interés saber las eventuales relaciones de la irisina, considerada “hormona del ejercicio”, combinando su acción respecto al ejercicio y con la adiposidad.

Las adipocitoquinas son citoquinas secretadas en tejido adiposo que se han demostrado pueden contribuir a exacerbar la inflamación crónica que se ha observado juega un papel importante en la inflamación articular, el dolor y afectación funcional de la artrosis(262) y que pueden contribuir a la patogenia de la misma(263, 264). Como se ha mencionado, las adipocitoquinas se secretan a partir del tejido adiposo, correspondiendo probablemente la mayor parte de los niveles circulantes a la originada por la grasa visceral, que es la globalmente más voluminosa en el organismo. Sin embargo, también los adipocitos de otras localizaciones, como de la grasa subcutánea o de la grasa intraarticular también pueden secretar dichos mediadores(210).

Al analizar los resultados de la presente tesis doctoral, se observó que los niveles de irisina a nivel de líquido sinovial mostraron un muy alto grado de correlación con los niveles de leptina, tanto con los niveles de leptina sinoviales como los plasmáticos en nuestros pacientes con artrosis. La leptina es una adipocitoquina muy importante en relación con la obesidad y el síndrome metabólico(265, 266), situaciones ambas que son altamente prevalentes en nuestra muestra de pacientes. La leptina se asocia asimismo a diferentes factores de riesgo metabólico, como dislipemia, resistencia a la insulina o adiposidad(267). En relación al ejercicio se ha observado que este puede reducir los niveles sistémicos de leptina de forma independiente a los cambios en variables antropométricas(268). Sin embargo, con relación a la irisina y la leptina, los estudios son discordantes. La leptina parece inhibir el amarronamiento de los adipocitos dependiente de la irisina mediante la disminución de la actividad de UCP1(60) y Gutiérrez-Repiso et al(269) observaron que la administración de leptina se asociaba con una disminución en la expresión de FNDC5 y de irisina en plasma. Reforzando esta posible relación inversa entre leptina e irisina, Mazur-Bialy(123) et al evidenciaron que al tratar adipocitos expuestos a lipopolisacárido con irisina el resultado fue una disminución en la expresión de leptina, cuando el efecto habitual de tratar adipocitos con

lipopolisacárido es un aumento de la expresión de dicha adipocitoquina. Sin embargo, otros estudios han encontrado una correlación positiva entre los niveles de leptina e irisina(141, 142) y algunos autores no han observado asociación entre ellas(24, 25, 48, 270).

A nivel de líquido sinovial, entre el resto de adipocitoquinas estudiadas la irisina solo mostró correlación, en este caso también positiva, con resistina. Al igual que leptina, la resistina se considera una adipocitoquina con acción proinflamatoria(271). Como otras adipocitoquinas, la resistina también se puede secretar a partir de la grasa intraarticular y los niveles de resistina en líquido sinovial se ha relacionado con la patogenia de la artrosis de rodilla(272), así como con la severidad clínica(273) y radiológica(274) de la enfermedad. Nuestro grupo de trabajo evidenció que los niveles de resistina en líquido sinovial se asociaban directamente con la severidad clínica en esta misma cohorte de pacientes, incluso tras corrección por factores de confusión, incluida la obesidad(192). Respecto a la relación con el ejercicio, al igual que ocurre con leptina, se ha observado que los niveles circulantes de resistina disminuyen con el ejercicio longitudinal(268).

A diferencia de su asociación con leptina, a nivel plasmático irisina y resistina no mostraron asociación, lo cual permite especular que la relación entre irisina y resistina sí puede estar relacionada con procesos de carácter inflamatorio y/o metabólicos locales en la propia articulación, a diferencia de lo observado con leptina, la cual podría encontrarse más relacionada con procesos sistémicos o directamente con la obesidad. En el presente trabajo se observó, de forma congruente pues ambas son consideradas antiinflamatorias o protectoras, una asociación inversa de irisina con adiponectina y omentina. La adiponectina es considerada el principal mediador antiinflamatorio producido por el tejido adiposo y sus niveles suelen encontrarse disminuidos en pacientes obesos(266, 275), o en sujetos con otros factores de riesgo cardiometabólico(276). De manera inversa al efecto observado y antes referido con leptina, Mazur-Bialy et al(123) en un estudio con adipocitos tratados con polisacárido, se evidenció que la exposición a irisina incrementó la síntesis de adiponectina,

revirtiendo el efecto atenuante del tratamiento con lipopolisacárido sobre la expresión de adiponectina. Varios son los estudios que han establecido una asociación negativa entre irisina y adiponectina(277), sugiriendo algunos autores un mecanismo de compensación o de resistencia de ambas en estados de alteración metabólica(24, 278). Por su parte, la omentina es una adipocitoquina menos estudiada (con lo cual hay menos estudios de su relación con irisina), pero con un perfil funcional muy similar a adiponectina(279), habiéndose observado una relación negativa como en el caso de la adiponectina(280).

En resumen, al respecto de la relación de irisina con adipocitoquinas en artrosis de rodilla, no podemos afirmar en base al presente estudio si la irisina se comporta como una adipocitoquina proinflamatoria pero sí que correlaciona con las principales adipocitoquinas proinflamatorias y que se encuentran asociadas a mayor efecto negativo a nivel metabólico como son leptina y resistina. En base a lo anteriormente expuesto, en pacientes con artrosis de rodilla, la relación a nivel local de irisina con resistina y con hs-PCR en líquido sinovial podría apoyar la idea de que irisina en artrosis de rodilla se comporta como una adipocitoquina proinflamatoria, o cuando menos que se asocia a ellas en líquido sinovial. En apoyo de esta idea, la irisina en suero se correlaciona de forma inversa con los niveles plasmáticos de adipocitoquinas consideradas protectoras, como adiponectina y omentina.

En este estudio, tras el análisis multivariante gran parte de los efectos desaparecieron tras la inclusión de IMC en el modelo, lo cual indicaría que gran parte de la aparente influencia de la relación de irisina con algunas adipocitoquinas se encontraba ligada a su estrecha relación con la obesidad. No obstante, cuando en el análisis en plasma se incluyeron factores inflamatorios (hs-PCR) y las adipocitoquinas en el modelo sí se mantuvo una clara relación de irisina en plasma con los niveles plasmáticos de leptina. En un análisis con técnicas de machine learning y clusterización realizado en un estudio posterior con esta misma cohorte de paciente hemos observado que aproximadamente un 30% de pacientes presentan un fenotipo inflamatorio metabólico relacionado con la

grasa corporal, la obesidad y el síndrome metabólico, y que está caracterizado por presentar altos niveles de IL-6, hs-PCR y calprotectina y los mayores niveles de leptina e irisina y los menores niveles de adiponectina y omentina, tanto en líquido sinovial como en plasma; dicho fenotipo se asociaba a mayor dolor, limitación funcional y progresión radiológica tras 2 años de evolución. Como contraposición, aproximadamente otro 30% de los pacientes presentaba un fenotipo caracterizado por baja inflamación y no asociado a rasgos metabólicos, y que presentaban una imagen especular a la anterior en lo referente a marcadores inflamatorios y niveles de adipocitoquinas y repercusión clínica. Este dato refuerza lo comentado hasta el momento referente a la asociación de irisina como factor proinflamatorio en situación de obesidad.

7.6. Irisina y grado de ejercicio

En este estudio se observó que los niveles de irisina, tanto a nivel de líquido sinovial como a nivel plasmático, presentaban una relación inversa con los niveles de ejercicio, siendo algo más llamativa dicha relación en el caso de la irisina plasmática.

En el análisis multivariante en el que se estableció la irisina como variable dependiente, la única variable significativamente asociada con los niveles de irisina fue la obesidad, no encontrándose relación con el resto de los factores evaluados (edad, tiempo de evolución de la enfermedad, grado radiológico), incluyendo los niveles de ejercicio. El dato es relativamente sorprendente dado que la literatura médica al respecto en población sana apoya la asociación entre ejercicio y niveles de irisina. Sin embargo, la relación de la irisina con el ejercicio en pacientes con artrosis de rodilla no ha sido previamente estudiada.

La irisina es una mioquina y su secreción se halla claramente relacionada con el ejercicio. En este sentido, la mayoría de los estudios sobre irisina y ejercicio están centrados en el papel del ejercicio sobre la secreción y los niveles de irisina en sujetos

sanos, especialmente deportistas e incluso atletas de élite. Por el contrario, la relación de la irisina en sujetos con algún tipo de enfermedad y su relación con el ejercicio, incluso en patologías en las que el ejercicio y el sedentarismo tienen una influencia, como es el caso de la artrosis, son escasos y hasta la fecha se han centrado en el papel de la dieta y el ejercicio combinados y su efecto sobre los niveles de irisina y en obesidad o en diferentes enfermedades metabólicas. La mayor parte de estudios han observado que de forma predominante los niveles plasmáticos de irisina se relacionan con la intensidad (a mayor intensidad, mayor secreción), o la frecuencia del ejercicio (mayor secreción en la actividad física intermitente que cuando es continua)(52, 63, 64, 66), si bien no todos van en este mismo sentido(69, 281),

A diferencia de los sujetos incluidos en la mayoría de estudios previos, nuestra cohorte de pacientes con artrosis de rodilla son de mayor edad (muy mayoritariamente superior a los 60 años) y en una proporción relativamente alta presentan comorbilidad, frecuentemente de características metabólicas y cardiovascular, circunstancias frecuentes entre los pacientes con artrosis de rodilla tal como se ha observado en diferentes trabajos(282, 283, 284, 285), incluido uno realizado por nuestro grupo en nuestra población de referencia(216). Aunque algunos autores afirman que en población sana la modulación de la secreción de irisina parece depender de la intensidad y modalidad de ejercicio, y no de la edad o del nivel de forma(64), la mayoría de autores sí establecen una influencia de la edad en su secreción en respuesta al ejercicio, siendo esta correlación mayor en población joven(66, 286) tal como es de esperar por presentar una masa mayor y/o mejor estado muscular(24, 49), o en aquellos con mejor forma física basal(67). Al respecto de este último factor, se ha de tener en cuenta que la población con artrosis de rodilla se caracteriza por presentar una menor masa muscular(161), en parte por ser una población más sedentaria y que por lo general no realiza ejercicio intenso, y también por presentar además no solo mayores índices de obesidad central, sino también mayor adiposidad general, incluida la infiltración grasa de la musculatura esquelética(157). Otro aspecto a tener en cuenta en los diferentes estudios es la

diferencia en la secreción de irisina en relación al sexo, siendo mayor en varones en relación al ejercicio, probablemente traduciendo la mayor masa muscular(66), si bien algún estudio ha encontrado niveles de irisina menores ajustando por masa magra(57). En nuestro estudio no existen desviaciones de los resultados con relación al sexo puesto que se trata de una muestra homogénea en la que todas las participantes son mujeres. En cuanto al sedentarismo, en un estudio en que se comparaban los niveles de irisina en sujetos sedentarios comparado con individuos activos, Moreno et al(218) encontraron menores niveles de irisina basales en los sujetos activos; de forma interesante, en este estudio en el caso de los individuos sedentarios, y no en los activos, los niveles de irisina no solo eran mayores sino que correlacionaban con IMC y otros parámetros metabólicos. En este sentido, los escasos estudios en que se analizan niveles basales o en reposo de irisina muestran resultados inconsistentes, estando la mayoría de los trabajos centrados en los cambios en los niveles de irisina en relación con el ejercicio agudo.

También son menos numerosos los estudios sobre irisina en ejercicio de baja intensidad más o menos mantenido, como el que suelen realizar los pacientes con artrosis de rodilla. Varios estudios coinciden en que el ejercicio crónico no incrementa los niveles de irisina(63). De hecho, en un estudio randomizado y controlado, Hecksteden et al(70) incluso apuntan a que el ejercicio crónico podría incluso disminuir los niveles de irisina, lo cual parece confirmarse en una revisión sistemática(74). No obstante, otros estudios sugieren un incremento de los niveles de irisina en relación a por ejemplo ejercicio continuo de baja intensidad (como la marcha nórdica)(78). Sin embargo, en un estudio especialmente interesante en lo que respecta a su aplicabilidad en pacientes con artrosis de rodilla es el realizado por Korkmaz et al(78), en el cual sujetos (en este caso solo hombres) obesos presentaron un aumento de los niveles de irisina tras 12 semanas de realizar periódicamente marcha nórdica, asociándose a su vez a una mejoría de diversos parámetros metabólicos. En el contexto de la artrosis la marcha nórdica puede estar especialmente indicada puesto que se trata de un ejercicio es adaptable y

relativamente poco exigente y comporta una sobrecarga relativamente a nivel articular. Es más, Gmiat et al(287) encontraron que la práctica de marcha nórdica se correlacionó negativamente con determinados marcadores inflamatorios, como IL-6 o HMGB1.

En cuanto a niveles basales de irisina, que sería la situación de la mayoría de los pacientes incluidos en nuestro estudio, Biniamov et al(81) no encontraron diferencias entre los niveles de irisina en reposo con diferentes parámetros de actividad física ni con el estado de forma en sanos. Lo mismo han encontrado otros autores(67), incluso en pacientes con diferentes grados de actividad física(57).

Por último, cabe considerar también el papel de la obesidad en la relación ejercicio-irisina, dada su alta prevalencia en artrosis de rodilla en general y en nuestra cohorte en particular. En los diversos estudios en adultos en general parece existir una relación inversa entre obesidad e irisina en sujetos sanos, (50, 88), y el ejercicio en obesos parece que también estimula la secreción de irisina,(65, 85), con algún estudio en el que incluso se ha observado que el incremento en los niveles de irisina en relación al ejercicio también se asoció a una minoría de los parámetros metabólicos(83). No obstante, y una vez más, existen resultados contradictorios por parte de otros estudios que no han encontrado incremento en los niveles de irisina con el ejercicio en obesos(63, 86, 87).

Con todo lo referido anteriormente y no existiendo estudios previos en pacientes con artrosis de rodilla, resulta difícil establecer cuál puede ser la influencia del ejercicio en los niveles de irisina en estos pacientes. Si bien no existe unanimidad en la literatura, sería de esperar encontrar mayores niveles de irisina en aquellos pacientes con mayor grado de actividad; sin embargo, en nuestros pacientes esta relación fue la contraria. Una explicación podría ser que el nivel de actividad física de estos pacientes (>150 minutos/semana y habitualmente caminar) no sería suficiente para producir una secreción significativa de irisina por parte de la musculatura esquelética, especialmente en una población en que probablemente la masa muscular se encuentra disminuida. Otra explicación, no excluyente de la anterior y probablemente complementaria, sería

que en pacientes más sedentarios y habitualmente más obesos se secretaría una mayor cantidad a partir del tejido adiposo. La relación entre irisina y ejercicio físico parecería cuadrar con esta hipótesis, pues menor ejercicio se asoció con mayores niveles de irisina, lo cual no apoyaría el papel de secreción por ejercicio y quizás sí la obesidad como el factor más relevante en este grupo de sujetos.



CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

- Existe una asociación entre irisina y severidad clínica en mujeres con artrosis de rodilla, pero probablemente esté ligada a su estrecha relación con la obesidad, que es a su vez un importante factor en la severidad clínica de la artrosis de rodilla.
- Los niveles de irisina en líquido sinovial no presentan una relación significativa con la severidad radiológica en esta cohorte de pacientes.
- La irisina en la cohorte estudiada de mujeres con sobrepeso/obesidad y artrosis de rodilla muestra una alta asociación con IMC y medidas de adiposidad.
- La correlación observada entre leptina e irisina en líquido sinovial y suero posiblemente refleja un claro efecto de la obesidad en los niveles de estas adipocitoquinas.
- Los niveles de irisina en líquido sinovial correlacionan con los niveles sinoviales de hs-PCR, pero no con las citoquinas proinflamatorias estudiadas. En este sentido los hallazgos obtenidos no nos permiten establecer el papel que pueda tener la irisina en el proceso inflamatorio de nuestros pacientes con artrosis de rodilla.
- Existe una asociación negativa entre niveles de irisina en líquido sinovial y sangre con el nivel de ejercicio en pacientes con artrosis de rodilla, probablemente traduciendo el mayor índice de obesidad y adiposidad en pacientes más sedentarios. Por otra parte, parece improbable que el ejercicio de baja intensidad realizado por pacientes de artrosis de rodilla pueda elevar de forma significativa los niveles de irisina.



PERSPECTIVAS FUTURAS

9. PERSPECTIVAS FUTURAS

Nuestro grupo de trabajo sigue manteniendo y aumentando la presente cohorte de pacientes con artrosis de rodilla, ampliándola tanto con mujeres como con hombres e incluyendo también pacientes sin derrame mantenido. La intención de nuestro grupo de trabajo es continuar analizando la influencia de diversos factores y parámetros de carácter metabólico e inflamatorio en la sintomatología, la funcionalidad de los pacientes y en la progresión de la enfermedad.

En relación con el trabajo en el que se enmarca la actual tesis doctoral:

Completar el análisis, usando la misma metodología, de la asociación de irisina y otras adipocitoquinas con la artrosis de rodilla en hombres, para valorar la existencia de diferencias relacionadas con el género, así como en pacientes sin derrame sinovial.

Analizar, usando la misma metodología, la asociación de irisina y otras adipocitoquinas con la artrosis de rodilla en hombres y mujeres con normopeso, para confirmar la relevancia del papel de la obesidad, la adiposidad y alteraciones metabólicas en las asociaciones observadas.

De forma prospectiva estudiar la progresión radiológica en los pacientes en función de la irisina y las diferentes adipocitoquinas estudiadas.

Prospectivamente, investigar la influencia del ejercicio en los niveles de irisina y el resto de los parámetros clínicos y analíticos en pacientes con artrosis de rodilla, interviniendo terapéuticamente mediante ejercicio regular y programado.

A nivel básico existen diversas líneas de trabajo entorno a la irisina, como son descubrir su receptor y también conocer mejor los efectos antioxidantes, antiinflamatorios y su papel en la apoptosis en la artrosis de rodilla, así como su potencial terapéutico.



BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012;481(7382):463-8.
2. Zhang Y, Mu Q, Zhou Z, Song H, Wu F, Jiang M, et al. Protective Effect of Irisin on Atherosclerosis via Suppressing Oxidized Low Density Lipoprotein Induced Vascular Inflammation and Endothelial Dysfunction. *PLoS One*. 2016;11(6):e0158038.
3. Efe TH, Açar B, Ertem AG, Yayla KG, Algül E, Yayla Ç, et al. Serum Irisin Level Can Predict the Severity of Coronary Artery Disease in Patients with Stable Angina. *Korean Circ J*. 2017;47(1):44-9.
4. Staiger H, Böhm A, Scheler M, Berti L, Machann J, Schick F, et al. Common genetic variation in the human FNDC5 locus, encoding the novel muscle-derived 'browning' factor irisin, determines insulin sensitivity. *PLoS One*. 2013;8(4):e61903.
5. Murawska-Cialowicz E, Wojna J, Zuwała-Jagiello J. Crossfit training changes brain-derived neurotrophic factor and irisin levels at rest, after wingate and progressive tests, and improves aerobic capacity and body composition of young physically active men and women. *J Physiol Pharmacol*. 2015;66(6):811-21.
6. Lee P, Linderman JD, Smith S, Brychta RJ, Wang J, Idelson C, et al. Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell Metab*. 2014;19(2):302-9.
7. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, Guerra E, Pardo G, Tinahones F, et al. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(4):E769-78.
8. Pilegaard H, Saltin B, Neufer PD. Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1 α gene in human skeletal muscle. *J Physiol*. 2003;546(Pt 3):851-8.
9. Akimoto T, Pohnert SC, Li P, Zhang M, Gumbs C, Rosenberg PB, et al. Exercise stimulates Pgc-1 α transcription in skeletal muscle through activation of the p38 MAPK pathway. *J Biol Chem*. 2005;280(20):19587-93.
10. Lira VA, Benton CR, Yan Z, Bonen A. PGC-1 α regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299(2):E145-61.
11. Handschin C, Spiegelman BM. The role of exercise and PGC1 α in inflammation and chronic disease. *Nature*. 2008;454(7203):463-9.

12. Aydin S, Kuloglu T, Kalayci M, Yilmaz M, Cakmak T, Albayrak S, et al. A comprehensive immunohistochemical examination of the distribution of the fat-burning protein irisin in biological tissues. *Peptides*. 2014;61:130-6.
13. Rana KS, Arif M, Hill EJ, Aldred S, Nagel DA, Nevill A, et al. Plasma irisin levels predict telomere length in healthy adults. *Age (Dordr)*. 2014;36(2):995-1001.
14. Panati K, Suneetha Y, Narala VR. Irisin/FNDC5--An updated review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(4):689-97.
15. Gouveia MC, Vella JP, Cafeo FR, Affonso Fonseca FL, Bacci MR. Association between irisin and major chronic diseases: a review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(19):4072-7.
16. Huh JY, Dincer F, Mesfum E, Mantzoros CS. Irisin stimulates muscle growth-related genes and regulates adipocyte differentiation and metabolism in humans. *Int J Obes (Lond)*. 2014;38(12):1538-44.
17. Novelle MG, Contreras C, Romero-Picó A, López M, Diéguez C. Irisin, two years later. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:746281.
18. Gamas L, Matafome P, Seiça R. Irisin and Myonectin Regulation in the Insulin Resistant Muscle: Implications to Adipose Tissue: Muscle Crosstalk. *J Diabetes Res*. 2015;2015:359159.
19. Aydin S. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. *Peptides*. 2014;56:94-110.
20. Zhang Y, Li R, Meng Y, Li S, Donelan W, Zhao Y, et al. Irisin stimulates browning of white adipocytes through mitogen-activated protein kinase p38 MAP kinase and ERK MAP kinase signaling. *Diabetes*. 2014;63(2):514-25.
21. Rodríguez A, Ezquerro S, Méndez-Giménez L, Becerril S, Frühbeck G. Revisiting the adipocyte: a model for integration of cytokine signaling in the regulation of energy metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;309(8):E691-714.
22. Hofmann T, Elbelt U, Stengel A. Irisin as a muscle-derived hormone stimulating thermogenesis--a critical update. *Peptides*. 2014;54:89-100.
23. Liu JJ, Wong MD, Toy WC, Tan CS, Liu S, Ng XW, et al. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2013;27(4):365-9.
24. 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.
25. Polyzos SA, Kountouras J, Anastasilakis AD, Geladari EV, Mantzoros CS. Irisin in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2014;63(2):207-17.
26. Enerbäck S. Human brown adipose tissue. *Cell Metab*. 2010;11(4):248-52.

27. Villarroya F. Irisin, turning up the heat. *Cell Metab.* 2012;15(3):277-8.
28. Wu J, Boström P, Sparks LM, Ye L, Choi JH, Giang AH, et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell.* 2012;150(2):366-76.
29. Roberts MD, Bayless DS, Company JM, Jenkins NT, Padilla J, Childs TE, et al. Elevated skeletal muscle irisin precursor FNDC5 mRNA in obese OLETF rats. *Metabolism.* 2013;62(8):1052-6.
30. Pyrzak B, Demkow U, Kucharska AM. Brown Adipose Tissue and Browning Agents: Irisin and FGF21 in the Development of Obesity in Children and Adolescents. *Adv Exp Med Biol.* 2015;866:25-34.
31. Perakakis N, Triantafyllou GA, Fernandez-Real JM, Huh JY, Park KH, Seufert J, et al. Physiology and role of irisin in glucose homeostasis. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(6):324-37.
32. Mazur-Bialy AI, Pocheć E, Zarawski M. Anti-Inflammatory Properties of Irisin, Mediator of Physical Activity, Are Connected with TLR4/MyD88 Signaling Pathway Activation. *Int J Mol Sci.* 2017;18(4).
33. Zhu D, Wang H, Zhang J, Zhang X, Xin C, Zhang F, et al. Irisin improves endothelial function in type 2 diabetes through reducing oxidative/nitrative stresses. *J Mol Cell Cardiol.* 2015;87:138-47.
34. Zhang Y, Song H, Wu F, Mu Q, Jiang M, Wang F, et al. Irisin Inhibits Atherosclerosis by Promoting Endothelial Proliferation Through microRNA126-5p. *J Am Heart Assoc.* 2016;5(9).
35. Xin C, Liu J, Zhang J, Zhu D, Wang H, Xiong L, et al. Irisin improves fatty acid oxidation and glucose utilization in type 2 diabetes by regulating the AMPK signaling pathway. *Int J Obes (Lond).* 2016;40(3):443-51.
36. Liu S, Du F, Li X, Wang M, Duan R, Zhang J, et al. Effects and underlying mechanisms of irisin on the proliferation and apoptosis of pancreatic β cells. *PLoS One.* 2017;12(4):e0175498.
37. Song H, Wu F, Zhang Y, Wang F, Jiang M, Wang Z, et al. Irisin promotes human umbilical vein endothelial cell proliferation through the ERK signaling pathway and partly suppresses high glucose-induced apoptosis. *PLoS One.* 2014;9(10):e1110273.
38. Polyzos SA, Mantzoros CS. An update on the validity of irisin assays and the link between irisin and hepatic metabolism. *Metabolism.* 2015;64(9):937-42.
39. Swick AG, Orena S, O'Connor A. Irisin levels correlate with energy expenditure in a subgroup of humans with energy expenditure greater than predicted by fat free mass. *Metabolism.* 2013;62(8):1070-3.

40. Blüher S, Panagiotou G, Petroff D, Markert J, Wagner A, Klemm T, et al. Effects of a 1-year exercise and lifestyle intervention on irisin, adipokines, and inflammatory markers in obese children. *Obesity (Silver Spring)*. 2014;22(7):1701-8.
41. Chen JQ, Huang YY, Gusdon AM, Qu S. Irisin: a new molecular marker and target in metabolic disorder. *Lipids Health Dis*. 2015;14:2.
42. Elsen M, Raschke S, Eckel J. Browning of white fat: does irisin play a role in humans? *J Endocrinol*. 2014;222(1):R25-38.
43. Sanchis-Gomar F, Alis R, Pareja-Galeano H, Sola E, Victor VM, Rocha M, et al. Circulating irisin levels are not correlated with BMI, age, and other biological parameters in obese and diabetic patients. *Endocrine*. 2014;46(3):674-7.
44. Roca-Rivada A, Castelao C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Belén Crujeiras A, et al. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS One*. 2013;8(4):e60563.
45. Yan B, Shi X, Zhang H, Pan L, Ma Z, Liu S, et al. Association of serum irisin with metabolic syndrome in obese Chinese adults. *PLoS One*. 2014;9(4):e94235.
46. Al-Daghri NM, Alkharfy KM, Rahman S, Amer OE, Vinodson B, Sabico S, et al. Irisin as a predictor of glucose metabolism in children: sexually dimorphic effects. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(2):119-24.
47. Fukushima Y, Kurose S, Shinno H, Cao Thi Thu H, Tamanoi A, Tsutsumi H, et al. Relationships between serum irisin levels and metabolic parameters in Japanese patients with obesity. *Obes Sci Pract*. 2016;2(2):203-9.
48. Crujeiras AB, Pardo M, Arturo RR, Navas-Carretero S, Zulet MA, Martínez JA, et al. Longitudinal variation of circulating irisin after an energy restriction-induced weight loss and following weight regain in obese men and women. *Am J Hum Biol*. 2014;26(2):198-207.
49. Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Elbelt U, Kobelt P, Klapp BF. Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity--correlation with body mass index. *Peptides*. 2013;39:125-30.
50. Pardo M, Crujeiras AB, Amil M, Aguera Z, Jiménez-Murcia S, Baños R, et al. Association of irisin with fat mass, resting energy expenditure, and daily activity in conditions of extreme body mass index. *Int J Endocrinol*. 2014;2014:857270.
51. Crujeiras AB, Zulet MA, Lopez-Legarrea P, de la Iglesia R, Pardo M, Carreira MC, et al. Association between circulating irisin levels and the promotion of insulin resistance during the weight maintenance period after a dietary weight-lowering program in obese patients. *Metabolism*. 2014;63(4):520-31.

52. Löffler D, Müller U, Scheuermann K, Friebe D, Gesing J, Bieltz J, et al. Serum irisin levels are regulated by acute strenuous exercise. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(4):1289-99.
53. Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene? *Nature.* 2012;488(7413):E9-10; discussion E-1.
54. Choi YK, Kim MK, Bae KH, Seo HA, Jeong JY, Lee WK, et al. Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013;100(1):96-101.
55. Zhang HJ, Zhang XF, Ma ZM, Pan LL, Chen Z, Han HW, et al. Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults. *J Hepatol.* 2013;59(3):557-62.
56. Chang JS, Kim TH, Nguyen TT, Park KS, Kim N, Kong ID. Circulating irisin levels as a predictive biomarker for sarcopenia: A cross-sectional community-based study. *Geriatr Gerontol Int.* 2017;17(11):2266-73.
57. Anastasilakis AD, Polyzos SA, Saridakis ZG, Kynigopoulos G, Skouvaklidou EC, Molyvas 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.* 2014;99(9):3247-55.
58. Barbatelli G, Murano I, Madsen L, Hao Q, Jimenez M, Kristiansen K, et al. The emergence of cold-induced brown adipocytes in mouse white fat depots is determined predominantly by white to brown adipocyte transdifferentiation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;298(6):E1244-53.
59. Dong J, Dong Y, Chen F, Mitch WE, Zhang L. Inhibition of myostatin in mice improves insulin sensitivity via irisin-mediated cross talk between muscle and adipose tissues. *Int J Obes (Lond).* 2016;40(3):434-42.
60. Rodríguez A, Becerril S, Méndez-Giménez L, Ramírez B, Sáinz N, Catalán V, et al. Leptin administration activates irisin-induced myogenesis via nitric oxide-dependent mechanisms, but reduces its effect on subcutaneous fat browning in mice. *Int J Obes (Lond).* 2015;39(3):397-407.
61. Matsuo Y, Gleitsmann K, Mangner N, Werner S, Fischer T, Bowen TS, et al. Fibronectin type III domain containing 5 expression in skeletal muscle in chronic heart failure-relevance of inflammatory cytokines. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2015;6(1):62-72.
62. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab.* 2013;17(2):162-84.
63. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1 α , irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *FEBS J.* 2014;281(3):739-49.

64. 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.
65. Huh JY, Siopi A, Mougios V, Park KH, Mantzoros CS. Irisin in response to exercise in humans with and without metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(3):E453-7.
66. Huh JY, Mougios V, Kabasakalis A, Fatouros I, Siopi A, Douroudos II, et al. Exercise-induced irisin secretion is independent of age or fitness level and increased irisin may directly modulate muscle metabolism through AMPK activation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(11):E2154-61.
67. Daskalopoulou SS, Cooke AB, Gomez YH, Mutter AF, Filippaios A, Mesfum ET, et al. Plasma irisin levels progressively increase in response to increasing exercise workloads in young, healthy, active subjects. *Eur J Endocrinol.* 2014;171(3):343-52.
68. Nygaard H, Slettaløkken G, Vegge G, Hollan I, Whist JE, Strand T, et al. Irisin in blood increases transiently after single sessions of intense endurance exercise and heavy strength training. *PLoS One.* 2015;10(3):e0121367.
69. Kerstholt N, Ewert R, Nauck M, Spielhagen T, Bollmann T, Stubbe B, et al. Association of circulating irisin and cardiopulmonary exercise capacity in healthy volunteers: results of the Study of Health in Pomerania. *BMC Pulm Med.* 2015;15:41.
70. 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.
71. Raschke S, Elsen M, Gassenhuber H, Sommerfeld M, Schwahn U, Brockmann B, et al. Evidence against a beneficial effect of irisin in humans. *PLoS One.* 2013;8(9):e73680.
72. Ellefsen S, Vikmoen O, Slettaløkken G, Whist JE, Nygaard H, Hollan I, 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.* 2014;114(9):1875-88.
73. Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, Ahtiainen JP, Horttanainen M, Pöllänen E, et al. Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *J Physiol.* 2013;591(21):5393-400.
74. Qiu S, Cai X, Sun Z, Schumann U, Zügel M, Steinacker JM. Chronic Exercise Training and Circulating Irisin in Adults: A Meta-Analysis. *Sports Med.* 2015;45(11):1577-88.
75. Ost M, Coleman V, Kasch J, Klaus S. Regulation of myokine expression: Role of exercise and cellular stress. *Free Radic Biol Med.* 2016;98:78-89.

76. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol*. 2012;8(8):457-65.
77. Huh JY, Mougios V, Skraparlis A, Kabasakalis A, Mantzoros CS. Irisin in response to acute and chronic whole-body vibration exercise in humans. *Metabolism*. 2014;63(7):918-21.
78. Korkmaz A, Venojärvi M, Wasenius N, Manderoos S, Deruisseau KC, Gidlund EK, et al. Plasma irisin is increased following 12 weeks of Nordic walking and associates with glucose homeostasis in overweight/obese men with impaired glucose regulation. *Eur J Sport Sci*. 2019;19(2):258-66.
79. Kim HJ, Lee HJ, So B, Son JS, Yoon D, Song W. 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. *Physiol Res*. 2016;65(2):271-9.
80. Fatouros IG. Is irisin the new player in exercise-induced adaptations or not? A 2017 update. *Clin Chem Lab Med*. 2017.
81. Biniaminov N, Bandt S, Roth A, Haertel S, Neumann R, Bub A. Irisin, physical activity and fitness status in healthy humans: No association under resting conditions in a cross-sectional study. *PLoS One*. 2018;13(1):e0189254.
82. Hew-Butler T, Landis-Piowar K, Byrd G, Seimer M, Seigneurie N, Byrd B, et al. Plasma irisin in runners and nonrunners: no favorable metabolic associations in humans. *Physiol Rep*. 2015;3(1).
83. Otero-Díaz B, Rodríguez-Flores M, Sánchez-Muñoz V, Monraz-Preciado F, Ordoñez-Ortega S, Becerril-Elias V, et al. Exercise Induces White Adipose Tissue Browning Across the Weight Spectrum in Humans. *Front Physiol*. 2018;9:1781.
84. Elizondo-Montemayor L, Silva-Platas C, Torres-Quintanilla A, Rodríguez-López C, Ruiz-Esparza GU, Reyes-Mendoza E, et al. Association of Irisin Plasma Levels with Anthropometric Parameters in Children with Underweight, Normal Weight, Overweight, and Obesity. *Biomed Res Int*. 2017;2017:2628968.
85. Huang J, Wang S, Xu F, Wang D, Yin H, Lai Q, et al. Exercise training with dietary restriction enhances circulating irisin level associated with increasing endothelial progenitor cell number in obese adults: an intervention study. *PeerJ*. 2017;5:e3669.
86. Besse-Patin A, Montastier E, Vinel C, Castan-Laurell I, Louche K, Dray C, et al. Effect of endurance training on skeletal muscle myokine expression in obese men: identification of apelin as a novel myokine. *Int J Obes (Lond)*. 2014;38(5):707-13.
87. Kurdiova 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(5):1091-107.

88. Park KH, Zaichenko L, Brinkoetter M, Thakkar B, Sahin-Efe A, Joung KE, et al. Circulating irisin in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(12):4899-907.
89. Sesti G, Andreozzi F, Fiorentino TV, Mannino GC, Sciacqua A, Marini MA, et al. High circulating irisin levels are associated with insulin resistance and vascular atherosclerosis in a cohort of nondiabetic adult subjects. *Acta Diabetol.* 2014;51(5):705-13.
90. Assyov Y, Gateva A, Tsakova A, Kamenov Z. Irisin in the Glucose Continuum. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2016;124(1):22-7.
91. Lopez-Legarrea P, de la Iglesia R, Crujeiras AB, Pardo M, Casanueva FF, Zulet MA, et al. Higher baseline irisin concentrations are associated with greater reductions in glycemia and insulinemia after weight loss in obese subjects. *Nutr Diabetes.* 2014;4:e110.
92. Huerta AE, Prieto-Hontoria PL, Fernández-Galilea M, Sáinz N, Cuervo M, Martínez JA, et al. Circulating irisin and glucose metabolism in overweight/obese women: effects of α -lipoic acid and eicosapentaenoic acid. *J Physiol Biochem.* 2015;71(3):547-58.
93. Gouni-Berthold I, Berthold HK, Huh JY, Berman R, Spenrath N, Krone W, et al. Effects of lipid-lowering drugs on irisin in human subjects in vivo and in human skeletal muscle cells ex vivo. *PLoS One.* 2013;8(9):e72858.
94. García-Fontana B, Reyes-García R, Morales-Santana S, Ávila-Rubio V, Muñoz-Garach A, Rozas-Moreno P, et al. Relationship between myostatin and irisin in type 2 diabetes mellitus: a compensatory mechanism to an unfavourable metabolic state? *Endocrine.* 2016;52(1):54-62.
95. Liu TY, Shi CX, Gao R, Sun HJ, Xiong XQ, Ding L, et al. Irisin inhibits hepatic gluconeogenesis and increases glycogen synthesis via the PI3K/Akt pathway in type 2 diabetic mice and hepatocytes. *Clin Sci (Lond).* 2015;129(10):839-50.
96. Mo L, Shen J, Liu Q, Zhang Y, Kuang J, Pu S, et al. Irisin Is Regulated by CAR in Liver and Is a Mediator of Hepatic Glucose and Lipid Metabolism. *Mol Endocrinol.* 2016;30(5):533-42.
97. Huh JH, Ahn SV, Choi JH, Koh SB, Chung CH. High Serum Irisin Level as an Independent Predictor of Diabetes Mellitus: A Longitudinal Population-Based Study. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(23):e3742.
98. Tabak O, Simsek G, Erdenen F, Sozer V, Hasoglu T, Gelisgen R, et al. The relationship between circulating irisin, retinol binding protein-4, adiponectin and inflammatory mediators in patients with metabolic syndrome. *Arch Endocrinol Metab.* 2017;61(6):515-23.

99. Yang M, Chen P, Jin H, Xie X, Gao T, Yang L, et al. Circulating levels of irisin in middle-aged first-degree relatives of type 2 diabetes mellitus - correlation with pancreatic β -cell function. *Diabetol Metab Syndr*. 2014;6(1):133.
100. Wang L, Song J, Wang C, Lin P, Liang K, Sun Y, et al. Circulating Levels of Betatrophin and Irisin Are Not Associated with Pancreatic β -Cell Function in Previously Diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *J Diabetes Res*. 2016;2016:2616539.
101. Zhang C, Ding Z, Lv G, Li J, Zhou P, Zhang J. Lower irisin level in patients with type 2 diabetes mellitus: A case-control study and meta-analysis. *J Diabetes*. 2016;8(1):56-62.
102. Liu JJ, Liu S, Wong MD, Tan CS, Tavintharan S, Sum CF, et al. Relationship between circulating irisin, renal function and body composition in type 2 diabetes. *J Diabetes Complications*. 2014;28(2):208-13.
103. Zhang M, Chen P, Chen S, Sun Q, Zeng QC, Chen JY, et al. The association of new inflammatory markers with type 2 diabetes mellitus and macrovascular complications: a preliminary study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(11):1567-72.
104. Qiu S, Cai X, Yin H, Zügel M, Sun Z, Steinacker JM, et al. Association between circulating irisin and insulin resistance in non-diabetic adults: A meta-analysis. *Metabolism*. 2016;65(6):825-34.
105. Ebert T, Focke D, Petroff D, Wurst U, Richter J, Bachmann A, et al. Serum levels of the myokine irisin in relation to metabolic and renal function. *Eur J Endocrinol*. 2014;170(4):501-6.
106. Benedini S, Dozio E, Invernizzi PL, Vianello E, Banfi G, Terruzzi I, et al. Irisin: A Potential Link between Physical Exercise and Metabolism-An Observational Study in Differently Trained Subjects, from Elite Athletes to Sedentary People. *J Diabetes Res*. 2017;2017:1039161.
107. Ates I, Arikan MF, Erdogan K, Kaplan M, Yuksel M, Topcuoglu C, et al. Factors associated with increased irisin levels in the type 1 diabetes mellitus. *Endocr Regul*. 2017;51(1):1-7.
108. Espes D, Lau J, Carlsson PO. Increased levels of irisin in people with long-standing Type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2015;32(9):1172-6.
109. Xiong XQ, Chen D, Sun HJ, Ding L, Wang JJ, Chen Q, et al. FNDC5 overexpression and irisin ameliorate glucose/lipid metabolic derangements and enhance lipolysis in obesity. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852(9):1867-75.
110. Gao S, Li F, Li H, Huang Y, Liu Y, Chen Y. Effects and Molecular Mechanism of GST-Irisin on Lipolysis and Autocrine Function in 3T3-L1 Adipocytes. *PLoS One*. 2016;11(1):e0147480.

111. Grygiel-Górniak B, Puszczewicz M. A review on irisin, a new protagonist that mediates muscle-adipose-bone-neuron connectivity. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(20):4687-93.
112. Stanford KI, Middelbeek RJ, Townsend KL, An D, Nygaard EB, Hitchcox KM, et al. Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. *J Clin Invest.* 2013;123(1):215-23.
113. Yang X, Enerbäck S, Smith U. Reduced expression of FOXC2 and brown adipogenic genes in human subjects with insulin resistance. *Obes Res.* 2003;11(10):1182-91.
114. Lowell BB, S-Susulic V, Hamann A, Lawitts JA, Himms-Hagen J, Boyer BB, et al. Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature.* 1993;366(6457):740-2.
115. Oelmann S, Nauck M, Völzke H, Bahls M, Friedrich N. Circulating Irisin Concentrations Are Associated with a Favourable Lipid Profile in the General Population. *PLoS One.* 2016;11(4):e0154319.
116. Hwang YC, Jeon WS, Park CY, Youn BS. The ratio of skeletal muscle mass to visceral fat area is a main determinant linking circulating irisin to metabolic phenotype. *Cardiovasc Diabetol.* 2016;15:9.
117. Mora S, Otvos JD, Rifai N, Rosenson RS, Buring JE, Ridker PM. Lipoprotein particle profiles by nuclear magnetic resonance compared with standard lipids and apolipoproteins in predicting incident cardiovascular disease in women. *Circulation.* 2009;119(7):931-9.
118. Lehti M, Donelan E, Abplanalp W, Al-Massadi O, Habegger KM, Weber J, et al. High-density lipoprotein maintains skeletal muscle function by modulating cellular respiration in mice. *Circulation.* 2013;128(22):2364-71.
119. de la Iglesia R, Lopez-Legarrea P, Crujeiras AB, Pardo M, Casanueva FF, Zulet MA, et al. Plasma irisin depletion under energy restriction is associated with improvements in lipid profile in metabolic syndrome patients. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2014;81(2):306-11.
120. Bousmpoula A, Benidis E, Demeridou S, Kapeta-Kourkouli R, Chasiakou A, Chasiakou S, et al. Serum and follicular fluid irisin levels in women with polycystic ovaries undergoing ovarian stimulation: correlation with insulin resistance and lipoprotein lipid profiles. *Gynecol Endocrinol.* 2019;35(9):803-6.
121. Mazur-Bialy AI. Irisin acts as a regulator of macrophages host defense. *Life Sci.* 2017;176:21-5.

122. Gannon NP, Vaughan RA, Garcia-Smith R, Bisoffi M, Trujillo KA. Effects of the exercise-inducible myokine irisin on malignant and non-malignant breast epithelial cell behavior in vitro. *Int J Cancer*. 2015;136(4):E197-202.
123. Mazur-Bialy AI, Bilski J, Pochee E, Brzozowski T. New insight into the direct anti-inflammatory activity of a myokine irisin against proinflammatory activation of adipocytes. Implication for exercise in obesity. *J Physiol Pharmacol*. 2017;68(2):243-51.
124. Gaggini M, Cabiati M, Del Turco S, Navarra T, De Simone P, Filipponi F, et al. Increased FNDC5/Irisin expression in human hepatocellular carcinoma. *Peptides*. 2017;88:62-6.
125. Forsythe LK, Wallace JM, Livingstone MB. Obesity and inflammation: the effects of weight loss. *Nutr Res Rev*. 2008;21(2):117-33.
126. Esposito K, Giugliano G, Scuderi N, Giugliano D. Role of adipokines in the obesity-inflammation relationship: the effect of fat removal. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(4):1048-57; discussion 58-9.
127. Selvin E, Paynter NP, Erlinger TP. The effect of weight loss on C-reactive protein: a systematic review. *Arch Intern Med*. 2007;167(1):31-9.
128. Bilski J, Mazur-Bialy AI, Brzozowski B, Magierowski M, Jasnos K, Krzysiek-Maczka G, et al. Moderate exercise training attenuates the severity of experimental rodent colitis: the importance of crosstalk between adipose tissue and skeletal muscles. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:605071.
129. Mazur-Bialy AI, Bilski J, Wojcik D, Brzozowski B, Surmiak M, Hubalewska-Mazgaj M, et al. Beneficial Effect of Voluntary Exercise on Experimental Colitis in Mice Fed a High-Fat Diet: The Role of Irisin, Adiponectin and Proinflammatory Biomarkers. *Nutrients*. 2017;9(4).
130. Gleeson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(9):607-15.
131. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(4):972-8.
132. Chung KJ, Chatzigeorgiou A, Economopoulou M, Garcia-Martin R, Alexaki VI, Mitroulis I, et al. A self-sustained loop of inflammation-driven inhibition of beige adipogenesis in obesity. *Nat Immunol*. 2017;18(6):654-64.
133. Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(3):847-50.

134. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Bulmer K, Holly JM, Yudkin JS, Coppel SW. Production of soluble tumor necrosis factor receptors by human subcutaneous adipose tissue in vivo. *Am J Physiol*. 1999;277(6):E971-5.
135. McNelis JC, Olefsky JM. Macrophages, immunity, and metabolic disease. *Immunity*. 2014;41(1):36-48.
136. Wensveen FM, Valentić S, Šestan M, Turk Wensveen T, Polić B. The "Big Bang" in obese fat: Events initiating obesity-induced adipose tissue inflammation. *Eur J Immunol*. 2015;45(9):2446-56.
137. Van de Voorde J, Pauwels B, Boydens C, Decaluwé K. Adipocytokines in relation to cardiovascular disease. *Metabolism*. 2013;62(11):1513-21.
138. Chen C, Jiang J, Lü JM, Chai H, Wang X, Lin PH, et al. Resistin decreases expression of endothelial nitric oxide synthase through oxidative stress in human coronary artery endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299(1):H193-201.
139. Kadoglou NP, Sailer N, Moutzouoglou A, Kapelouzou A, Tsanikidis H, Vitta I, et al. Visfatin (nampt) and ghrelin as novel markers of carotid atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2010;118(2):75-80.
140. Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, Øie E, Dahl A, Michelsen A, et al. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization. *Circulation*. 2007;115(8):972-80.
141. Palacios-González B, Vadillo-Ortega F, Polo-Oteyza E, Sánchez T, Ancira-Moreno M, Romero-Hidalgo S, et al. Irisin levels before and after physical activity among school-age children with different BMI: a direct relation with leptin. *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23(4):729-32.
142. Joung KE, Park KH, Zaichenko L, Sahin-Efe A, Thakkar B, Brinkoetter M, et al. Early life adversity is associated with elevated levels of circulating leptin, irisin, and decreased levels of adiponectin in midlife adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(6):E1055-60.
143. Neogi T. The epidemiology and impact of pain in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013;21(9):1145-53.
144. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum*. 2008;58(1):26-35.
145. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M, et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a

systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380(9859):2163-96.

146. Jordan JM, Helmick CG, Renner JB, Luta G, Dragomir AD, Woodard J, et al. Prevalence of knee symptoms and radiographic and symptomatic knee osteoarthritis in African Americans and Caucasians: the Johnston County Osteoarthritis Project. *J Rheumatol*. 2007;34(1):172-80.

147. Turk DC, Wilson HD, Cahana A. Treatment of chronic non-cancer pain. *Lancet*. 2011;377(9784):2226-35.

148. Goh SL, Persson MSM, Stocks J, Hou Y, Lin J, Hall MC, et al. Efficacy and potential determinants of exercise therapy in knee and hip osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Ann Phys Rehabil Med*. 2019;62(5):356-65.

149. Zampogna B, Papalia R, Papalia GF, Campi S, Vasta S, Vorini F, et al. The Role of Physical Activity as Conservative Treatment for Hip and Knee Osteoarthritis in Older People: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med*. 2020;9(4).

150. Griffin TM, Guilak F. The role of mechanical loading in the onset and progression of osteoarthritis. *Exerc Sport Sci Rev*. 2005;33(4):195-200.

151. Fitzcharles MA, Lussier D, Shir Y. Management of chronic arthritis pain in the elderly. *Drugs Aging*. 2010;27(6):471-90.

152. Magnusson K, Scurrah K, Ystrom E, Ørstavik RE, Nilsen T, Steingrimsdóttir Ó, et al. Genetic factors contribute more to hip than knee surgery due to osteoarthritis - a population-based twin registry study of joint arthroplasty. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017;25(6):878-84.

153. Valdes AM, Spector TD. The contribution of genes to osteoarthritis. *Med Clin North Am*. 2009;93(1):45-66, x.

154. Dieppe PA, Lohmander LS. Pathogenesis and management of pain in osteoarthritis. *Lancet*. 2005;365(9463):965-73.

155. Salih S, Sutton P. Obesity, knee osteoarthritis and knee arthroplasty: a review. *BMC Sports Sci Med Rehabil*. 2013;5(1):25.

156. Felson DT, Anderson JJ, Naimark A, Walker AM, Meenan RF. Obesity and knee osteoarthritis. The Framingham Study. *Ann Intern Med*. 1988;109(1):18-24.

157. Marcus RL, Addison O, Kidde JP, Dibble LE, Lastayo PC. Skeletal muscle fat infiltration: impact of age, inactivity, and exercise. *J Nutr Health Aging*. 2010;14(5):362-6.

158. Veronese N, Cooper C, Reginster JY, Hochberg M, Branco J, Bruyère O, et al. Type 2 diabetes mellitus and osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 2019;49(1):9-19.

159. Thijssen E, van Caam A, van der Kraan PM. Obesity and osteoarthritis, more than just wear and tear: pivotal roles for inflamed adipose tissue and dyslipidaemia in obesity-induced osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2015;54(4):588-600.
160. Courties A, Sellam J, Berenbaum F. Metabolic syndrome-associated osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2017;29(2):214-22.
161. Krishnasamy P, Hall M, Robbins SR. The role of skeletal muscle in the pathophysiology and management of knee osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2018;57(suppl_4):iv22-iv33.
162. Cattano NM, Driban JB, Cameron KL, Sittler MR. Impact of physical activity and mechanical loading on biomarkers typically used in osteoarthritis assessment: current concepts and knowledge gaps. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2017;9(1):11-21.
163. McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC, Arden NK, Berenbaum F, Bierma-Zeinstra SM, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2014;22(3):363-88.
164. Fernandes L, Hagen KB, Bijlsma JW, Andreassen O, Christensen P, Conaghan PG, et al. EULAR recommendations for the non-pharmacological core management of hip and knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(7):1125-35.
165. Fransen M, McConnell S, Harmer AR, Van der Esch M, Simic M, Bennell KL. Exercise for osteoarthritis of the knee: a Cochrane systematic review. *Br J Sports Med*. 2015;49(24):1554-7.
166. Sekir U, Gür H. A multi-station proprioceptive exercise program in patients with bilateral knee osteoarthrosis: functional capacity, pain and sensorimotor function. A randomized controlled trial. *J Sports Sci Med*. 2005;4(4):590-603.
167. Lange AK, Vanwanseele B, Fiatarone Singh MA. Strength training for treatment of osteoarthritis of the knee: a systematic review. *Arthritis Rheum*. 2008;59(10):1488-94.
168. Park J, Bae J, Lee J. Complex Exercise Improves Anti-Inflammatory and Anabolic Effects in Osteoarthritis-Induced Sarcopenia in Elderly Women. *Healthcare (Basel)*. 2021;9(6).
169. Posa F, Zerlotin R, Ariano A, Cosola MD, Colaianni G, Fazio AD, et al. Irisin Role in Chondrocyte 3D Culture Differentiation and Its Possible Applications. *Pharmaceutics*. 2023;15(2).
170. Li X, Zhu X, Wu H, Van Dyke TE, Xu X, Morgan EF, et al. Roles and Mechanisms of Irisin in Attenuating Pathological Features of Osteoarthritis. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:703670.
171. Jia S, Yang Y, Bai Y, Wei Y, Zhang H, Tian Y, et al. Mechanical Stimulation Protects Against Chondrocyte Pyroptosis Through Irisin-Induced Suppression of PI3K/Akt/NF- κ B Signal Pathway in Osteoarthritis. *Front Cell Dev Biol*. 2022;10:797855.

172. Wang FS, Kuo CW, Ko JY, Chen YS, Wang SY, Ke HJ, et al. Irisin Mitigates Oxidative Stress, Chondrocyte Dysfunction and Osteoarthritis Development through Regulating Mitochondrial Integrity and Autophagy. *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(9).
173. Li X, Liu Y, Liu Q, Wang S, Ma Y, Jin Q. Recombinant human irisin regulated collagen II, matrix metalloproteinase-13 and the Wnt/ β -catenin and NF- κ B signaling pathways in interleukin-1 β -induced human SW1353 cells. *Exp Ther Med*. 2020;19(4):2879-86.
174. Vadalà G, Di Giacomo G, Ambrosio L, Cannata F, Cicione C, Papalia R, et al. Irisin Recovers Osteoarthritic Chondrocytes In Vitro. *Cells*. 2020;9(6).
175. He Z, Li H, Han X, Zhou F, Du J, Yang Y, et al. Irisin inhibits osteocyte apoptosis by activating the Erk signaling pathway in vitro and attenuates ALCT-induced osteoarthritis in mice. *Bone*. 2020;141:115573.
176. Zhang J, Huang X, Yu R, Wang Y, Gao C. Circulating irisin is linked to bone mineral density in geriatric Chinese men. *Open Med (Wars)*. 2020;15(1):763-8.
177. Wang X, Hu T, Ruan Y, Yao J, Shen H, Xu Y, et al. The Association of Serum Irisin with Bone Mineral Density and Turnover Markers in New-Onset Type 2 Diabetic Patients. *Int J Endocrinol*. 2022;2022:7808393.
178. Mao Y, Xu W, Xie Z, Dong Q. Association of Irisin and CRP Levels with the Radiographic Severity of Knee Osteoarthritis. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2016;20(2):86-9.
179. Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis Rheum*. 1986;29(8):1039-49.
180. Glass N, Segal NA, Sluka KA, Torner JC, Nevitt MC, Felson DT, et al. Examining sex differences in knee pain: the multicenter osteoarthritis study. *Osteoarthritis Cartilage*. 2014;22(8):1100-6.
181. Fang WH, Huang GS, Chang HF, Chen CY, Kang CY, Wang CC, et al. Gender differences between WOMAC index scores, health-related quality of life and physical performance in an elderly Taiwanese population with knee osteoarthritis. *BMJ Open*. 2015;5(9):e008542.
182. Gross JB, Guillaume C, Gégout-Pottie P, Mainard D, Presle N. Synovial fluid levels of adipokines in osteoarthritis: Association with local factors of inflammation and cartilage maintenance. *Biomed Mater Eng*. 2014;24(1 Suppl):17-25.
183. Expert Panel on Detection Ea, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program

(NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285(19):2486-97.

184. KELLGREN JH, LAWRENCE JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis*. 1957;16(4):494-502.

185. Lequesne MG, Mery C, Samson M, Gerard P. Indexes of severity for osteoarthritis of the hip and knee. Validation--value in comparison with other assessment tests. *Scand J Rheumatol Suppl*. 1987;65:85-9.

186. Hill CL, Gale DG, Chaisson CE, Skinner K, Kazis L, Gale ME, et al. Knee effusions, popliteal cysts, and synovial thickening: association with knee pain in osteoarthritis. *J Rheumatol*. 2001;28(6):1330-7.

187. Wallace G, Cro S, Doré C, King L, Kluzek S, Price A, et al. Associations Between Clinical Evidence of Inflammation and Synovitis in Symptomatic Knee Osteoarthritis: A Cross-Sectional Substudy. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2017;69(9):1340-8.

188. Abbasi B, Pezeshki-Rad M, Akhavan R, Sahebari M. Association between clinical and sonographic synovitis in patients with painful knee osteoarthritis. *Int J Rheum Dis*. 2017;20(5):561-6.

189. Hunter DJ, McDougall JJ, Keefe FJ. The symptoms of osteoarthritis and the genesis of pain. *Med Clin North Am*. 2009;93(1):83-100, xi.

190. Lee YC, Lu B, Bathon JM, Haythornthwaite JA, Smith MT, Page GG, et al. Pain sensitivity and pain reactivity in osteoarthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63(3):320-7.

191. Conde J, Scotece M, Gomez R, Lopez V, Gomez-Reino JJ, Gualillo O. Adipokines and osteoarthritis: novel molecules involved in the pathogenesis and progression of disease. *Arthritis*. 2011;2011:203901.

192. Calvet J, Orellana C, Albiñana Giménez N, Berenguer-Llargo A, Caixàs A, García-Manrique M, et al. Differential involvement of synovial adipokines in pain and physical function in female patients with knee osteoarthritis. A cross-sectional study. *Osteoarthritis Cartilage*. 2018;26(2):276-84.

193. Buscemi S, Corleo D, Vasto S, Buscemi C, Massenti MF, Nuzzo D, et al. Factors associated with circulating concentrations of irisin in the general population cohort of the ABCD study. *Int J Obes (Lond)*. 2018;42(3):398-404.

194. Buscemi S, Corleo D, Vasto S, Buscemi C, Barile AM, Rosafio G, et al. Serum Irisin Concentrations in Severely Inflamed Patients. *Horm Metab Res*. 2020;52(4):246-50.

195. Puigserver P, Rhee J, Lin J, Wu Z, Yoon JC, Zhang CY, et al. Cytokine stimulation of energy expenditure through p38 MAP kinase activation of PPARgamma coactivator-1. *Mol Cell*. 2001;8(5):971-82.

196. Tsoli M, Moore M, Burg D, Painter A, Taylor R, Lockie SH, et al. Activation of thermogenesis in brown adipose tissue and dysregulated lipid metabolism associated with cancer cachexia in mice. *Cancer Res.* 2012;72(17):4372-82.
197. Petruzzelli M, Schweiger M, Schreiber R, Campos-Olivas R, Tsoli M, Allen J, et al. A switch from white to brown fat increases energy expenditure in cancer-associated cachexia. *Cell Metab.* 2014;20(3):433-47.
198. Welsh P, Polisecki E, Robertson M, Jahn S, Buckley BM, de Craen AJ, et al. Unraveling the Directional Link between Adiposity and Inflammation: A Bidirectional Mendelian Randomization Approach. *Endocr Rev.* 2009;30(7):927-8.
199. Piva SJ, Tatsch E, De Carvalho JA, Bochi GV, Kober H, Duarte T, et al. Assessment of inflammatory and oxidative biomarkers in obesity and their associations with body mass index. *Inflammation.* 2013;36(1):226-31.
200. Lago R, Gomez R, Lago F, Gomez-Reino J, Gualillo O. Leptin beyond body weight regulation--current concepts concerning its role in immune function and inflammation. *Cell Immunol.* 252. United States 2008. p. 139-45.
201. Reichmann WM, Maillefert JF, Hunter DJ, Katz JN, Conaghan PG, Losina E. Responsiveness to change and reliability of measurement of radiographic joint space width in osteoarthritis of the knee: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage.* 2011;19(5):550-6.
202. Ozcakir S, Raif SL, Sivrioglu K, Kucukcakir N. Relationship between radiological severity and clinical and psychological factors in knee osteoarthritis. *Clin Rheumatol.* 2011;30(12):1521-6.
203. Toivanen AT, Arokoski JP, Manninen PS, Heliövaara M, Haara MM, Tyrväinen E, et al. Agreement between clinical and radiological methods of diagnosing knee osteoarthritis. *Scand J Rheumatol.* 2007;36(1):58-63.
204. Pereira D, Peleteiro B, Araújo J, Branco J, Santos RA, Ramos E. The effect of osteoarthritis definition on prevalence and incidence estimates: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage.* 2011;19(11):1270-85.
205. Hall M, Castelein B, Wittoek R, Calders P, Van Ginckel A. Diet-induced weight loss alone or combined with exercise in overweight or obese people with knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum.* 2019;48(5):765-77.
206. Messier SP, Loeser RF, Miller GD, Morgan TM, Rejeski WJ, Sevick MA, et al. Exercise and dietary weight loss in overweight and obese older adults with knee osteoarthritis: the Arthritis, Diet, and Activity Promotion Trial. *Arthritis Rheum.* 2004;50(5):1501-10.

207. Messier SP, Mihalko SL, Legault C, Miller GD, Nicklas BJ, DeVita P, et al. Effects of intensive diet and exercise on knee joint loads, inflammation, and clinical outcomes among overweight and obese adults with knee osteoarthritis: the IDEA randomized clinical trial. *JAMA*. 2013;310(12):1263-73.
208. Leong DJ, Gu XI, Li Y, Lee JY, Laudier DM, Majeska RJ, et al. Matrix metalloproteinase-3 in articular cartilage is upregulated by joint immobilization and suppressed by passive joint motion. *Matrix Biol*. 2010;29(5):420-6.
209. Munukka M, Waller B, Häkkinen A, Nieminen MT, Lammentausta E, Kujala UM, et al. Physical Activity Is Related with Cartilage Quality in Women with Knee Osteoarthritis. *Med Sci Sports Exerc*. 2017;49(7):1323-30.
210. Clockaerts S, Bastiaansen-Jenniskens YM, Runhaar J, Van Osch GJ, Van Offel JF, Verhaar JA, et al. The infrapatellar fat pad should be considered as an active osteoarthritic joint tissue: a narrative review. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(7):876-82.
211. Eymard F, Chevalier X. Inflammation of the infrapatellar fat pad. *Joint Bone Spine*. 2016;83(4):389-93.
212. Beattie KA, MacIntyre NJ, Ramadan K, Inglis D, Maly MR. Longitudinal changes in intermuscular fat volume and quadriceps muscle volume in the thighs of women with knee osteoarthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(1):22-9.
213. Kumar D, Karampinos DC, MacLeod TD, Lin W, Nardo L, Li X, et al. Quadriceps intramuscular fat fraction rather than muscle size is associated with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2014;22(2):226-34.
214. Pedroso MG, de Almeida AC, Aily JB, de Noronha M, Mattiello SM. Fatty infiltration in the thigh muscles in knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Rheumatol Int*. 2019;39(4):627-35.
215. Chen K, Zhou M, Wang X, Li S, Yang D. The Role of Myokines and Adipokines in Hypertension and Hypertension-related Complications. *Hypertens Res*. 2019;42(10):1544-51.
216. Calvet J, Orellana C, Larrosa M, Navarro N, Chillarón JJ, Pedro-Botet J, et al. High prevalence of cardiovascular co-morbidities in patients with symptomatic knee or hand osteoarthritis. *Scand J Rheumatol*. 2016;45(1):41-4.
217. Findlay DM. Vascular pathology and osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 46. England2007. p. 1763-8.
218. Moreno M, Moreno-Navarrete JM, Serrano M, Ortega F, Delgado E, Sanchez-Ragnarsson C, et al. Circulating irisin levels are positively associated with metabolic risk factors in sedentary subjects. *PLoS One*. 2015;10(4):e0124100.
219. Karvonen-Gutierrez CA, Sowers MR, Heeringa SG. Sex dimorphism in the association of cardiometabolic characteristics and osteophytes-defined radiographic

knee osteoarthritis among obese and non-obese adults: NHANES III. *Osteoarthritis Cartilage*. 20. England: 2012 Osteoarthritis Research Society International. Published by Elsevier Ltd; 2012. p. 614-21.

220. Cimmino MA, Cutolo M. Plasma glucose concentration in symptomatic osteoarthritis: a clinical and epidemiological survey. *Clin Exp Rheumatol*. 1990;8(3):251-7.

221. Rosa SC, Goncalves J, Judas F, Mobasher A, Lopes C, Mendes AF. Impaired glucose transporter-1 degradation and increased glucose transport and oxidative stress in response to high glucose in chondrocytes from osteoarthritic versus normal human cartilage. *Arthritis Res Ther*. 11. England 2009. p. R80.

222. Leung WKC, Yu AP, Lai CWK, Siu PM. Association of Markers of Proinflammatory Phenotype and Beige Adipogenesis with Metabolic Syndrome in Chinese Centrally Obese Adults. *J Diabetes Res*. 2018;2018:8956509.

223. Tsezou A, Iliopoulos D, Malizos KN, Simopoulou T. Impaired expression of genes regulating cholesterol efflux in human osteoarthritic chondrocytes. *J Orthop Res*. 2010;28(8):1033-9.

224. Brunner AM, Henn CM, Drewniak EI, Lesieur-Brooks A, Machan J, Crisco JJ, et al. High dietary fat and the development of osteoarthritis in a rabbit model. *Osteoarthritis Cartilage*. 20. England: 2012 Osteoarthritis Research Society International. Published by Elsevier Ltd; 2012. p. 584-92.

225. Gierman LM, van der Ham F, Koudijs A, Wielinga PY, Kleemann R, Kooistra T, et al. Metabolic stress-induced inflammation plays a major role in the development of osteoarthritis in mice. *Arthritis and rheumatism*. 2012;64(4):1172-81.

226. Sowers M, Karvonen-Gutierrez CA, Palmieri-Smith R, Jacobson JA, Jiang Y, Ashton-Miller JA. Knee osteoarthritis in obese women with cardiometabolic clustering. *Arthritis Rheum*. 2009;61(10):1328-36.

227. Saltiel AR, Olefsky JM. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*. 2017;127(1):1-4.

228. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005;365(9468):1415-28.

229. Leite AA, Costa AJ, Lima Bde A, Padilha AV, Albuquerque EC, Marques CD. Comorbidities in patients with osteoarthritis: frequency and impact on pain and physical function. *Rev Bras Reumatol*. 2011;51(2):118-23.

230. Montagnana M, Fava C, Targher G, Franchini M, Danese E, Bonafini S, et al. Plasma Leptin in Patients at Intermediate to High Cardiovascular Risk With and Without Type 2 Diabetes Mellitus. *J Clin Lab Anal*. 2017;31(2).

231. de Lange-Brokaar BJ, Ioan-Facsinay A, Yusuf E, Visser AW, Kroon HM, van Osch GJ, et al. Association of pain in knee osteoarthritis with distinct patterns of synovitis. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(3):733-40.
232. Moradi B, Rosshirt N, Tripel E, Kirsch J, Barié A, Zeifang F, et al. Unicompartmental and bicompartmental knee osteoarthritis show different patterns of mononuclear cell infiltration and cytokine release in the affected joints. *Clin Exp Immunol*. 2015;180(1):143-54.
233. Scanzello CR. Role of low-grade inflammation in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2017;29(1):79-85.
234. Pearle AD, Scanzello CR, George S, Mandl LA, DiCarlo EF, Peterson M, et al. Elevated high-sensitivity C-reactive protein levels are associated with local inflammatory findings in patients with osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007;15(5):516-23.
235. Penninx BW, Abbas H, Ambrosius W, Nicklas BJ, Davis C, Messier SP, et al. Inflammatory markers and physical function among older adults with knee osteoarthritis. *J Rheumatol*. 2004;31(10):2027-31.
236. Scanzello CR, Goldring SR. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone*. 2012;51(2):249-57.
237. Daghestani HN, Pieper CF, Kraus VB. Soluble macrophage biomarkers indicate inflammatory phenotypes in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(4):956-65.
238. Zhuo Q, Yang W, Chen J, Wang Y. Metabolic syndrome meets osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2012.
239. Minguzzi M, Cetrullo S, D'Adamo S, Silvestri Y, Flamigni F, Borzì RM. Emerging Players at the Intersection of Chondrocyte Loss of Maturation Arrest, Oxidative Stress, Senescence and Low-Grade Inflammation in Osteoarthritis. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:3075293.
240. Kane D, Balint PV, Sturrock RD. Ultrasonography is superior to clinical examination in the detection and localization of knee joint effusion in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2003;30(5):966-71.
241. Sarmanova A, Hall M, Moses J, Doherty M, Zhang W. Synovial changes detected by ultrasound in people with knee osteoarthritis - a meta-analysis of observational studies. *Osteoarthritis Cartilage*. 2016;24(8):1376-83.
242. Bruyn GA, Naredo E, Damjanov N, Bachta A, Baudoin P, Hammer HB, et al. An OMERACT reliability exercise of inflammatory and structural abnormalities in patients with knee osteoarthritis using ultrasound assessment. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(5):842-6.

243. Larsson S, Struglics A, Lohmander LS, Frobell R. Surgical reconstruction of ruptured anterior cruciate ligament prolongs trauma-induced increase of inflammatory cytokines in synovial fluid: an exploratory analysis in the KANON trial. *Osteoarthritis Cartilage*. 2017;25(9):1443-51.
244. Yuan K, Chen HL, Cui ZM. Diagnostic accuracy of C-reactive protein for periprosthetic joint infection: a meta-analysis. *Surg Infect (Larchmt)*. 2014;15(5):548-59.
245. Zamani B, Jamali R, Ehteram H. Synovial fluid adenosine deaminase and high-sensitivity C-reactive protein activity in differentiating monoarthritis. *Rheumatol Int*. 2012;32(1):183-8.
246. Stürmer T, Brenner H, Koenig W, Günther KP. Severity and extent of osteoarthritis and low grade systemic inflammation as assessed by high sensitivity C reactive protein. *Ann Rheum Dis*. 2004;63(2):200-5.
247. Conrozier T, Chappuis-Cellier C, Richard M, Mathieu P, Richard S, Vignon E. Increased serum C-reactive protein levels by immunonephelometry in patients with rapidly destructive hip osteoarthritis. *Rev Rhum Engl Ed*. 1998;65(12):759-65.
248. Sharif M, Shepstone L, Elson CJ, Dieppe PA, Kirwan JR. Increased serum C reactive protein may reflect events that precede radiographic progression in osteoarthritis of the knee. *Ann Rheum Dis*. 2000;59(1):71-4.
249. Labarrere CA, Zaloga GP. C-reactive protein: from innocent bystander to pivotal mediator of atherosclerosis. *Am J Med*. 2004;117(7):499-507.
250. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*. 2001;103(13):1813-8.
251. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *J Biol Chem*. 2004;279(47):48487-90.
252. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med*. 1999;340(6):448-54.
253. Singh P, Hoffmann M, Wolk R, Shamsuzzaman AS, Somers VK. Leptin induces C-reactive protein expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(9):e302-7.
254. Calabro P, Chang DW, Willerson JT, Yeh ET. Release of C-reactive protein in response to inflammatory cytokines by human adipocytes: linking obesity to vascular inflammation. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(6):1112-3.
255. do Amaral RJFC, Almeida HV, Kelly DJ, O'Brien FJ, Kearney CJ. Infrapatellar Fat Pad Stem Cells: From Developmental Biology to Cell Therapy. *Stem Cells Int*. 2017;2017:6843727.

256. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci.* 2013;9(2):191-200.
257. Barboza E, Hudson J, Chang WP, Kovats S, Towner RA, Silasi-Mansat R, et al. Profibrotic Infrapatellar Fat Pad Remodeling Without M1 Macrophage Polarization Precedes Knee Osteoarthritis in Mice With Diet-Induced Obesity. *Arthritis Rheumatol.* 2017;69(6):1221-32.
258. Belluzzi E, Stocco E, Pozzuoli A, Granzotto M, Porzionato A, Vettor R, et al. Contribution of Infrapatellar Fat Pad and Synovial Membrane to Knee Osteoarthritis Pain. *Biomed Res Int.* 2019;2019:6390182.
259. Du Clos TW, Mold C. C-reactive protein: an activator of innate immunity and a modulator of adaptive immunity. *Immunol Res.* 2004;30(3):261-77.
260. Parvizi J, Jacovides C, Adeli B, Jung KA, Hozack WJ, Mark B. Coventry Award: synovial C-reactive protein: a prospective evaluation of a molecular marker for periprosthetic knee joint infection. *Clin Orthop Relat Res.* 2012;470(1):54-60.
261. Runhaar J, Koes BW, Clockaerts S, Bierma-Zeinstra SM. A systematic review on changed biomechanics of lower extremities in obese individuals: a possible role in development of osteoarthritis. *Obes Rev.* 2011;12(12):1071-82.
262. Carrión M, Frommer KW, Pérez-García S, Müller-Ladner U, Gomariz RP, Neumann E. The Adipokine Network in Rheumatic Joint Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;20(17).
263. Conde J, Scotece M, Abella V, Gómez R, López V, Villar R, et al. Identification of novel adipokines in the joint. Differential expression in healthy and osteoarthritis tissues. *PLoS One.* 2015;10(4):e0123601.
264. Conde J, Scotece M, Gómez R, Lopez V, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Adipokines and osteoarthritis: novel molecules involved in the pathogenesis and progression of disease. *Arthritis.* 2011;2011:203901.
265. Mantzoros CS, Magkos F, Brinkoetter M, Sienkiewicz E, Dardeno TA, Kim SY, et al. Leptin in human physiology and pathophysiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;301(4):E567-84.
266. Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm.* 2013;2013:139239.
267. Kaneda H, Nakajima T, Haruyama A, Shibasaki I, Hasegawa T, Sawaguchi T, et al. Association of serum concentrations of irisin and the adipokines adiponectin and leptin with epicardial fat in cardiovascular surgery patients. *PLoS One.* 2018;13(8):e0201499.

268. Gondim OS, de Camargo VT, Gutierrez FA, Martins PF, Passos ME, Momesso CM, et al. Benefits of Regular Exercise on Inflammatory and Cardiovascular Risk Markers in Normal Weight, Overweight and Obese Adults. *PLoS One*. 2015;10(10):e0140596.
269. Gutierrez-Repiso C, Garcia-Serrano S, Rodriguez-Pacheco F, Garcia-Escobar E, Haro-Mora JJ, Garcia-Arnes J, et al. FNDC5 could be regulated by leptin in adipose tissue. *Eur J Clin Invest*. 2014;44(10):918-25.
270. Gavrieli A, Panagiotou G, Mantzoros CS. Leptin administration in physiological or pharmacological doses does not alter circulating irisin levels in humans. *Int J Obes (Lond)*. 2016;40(9):1461-3.
271. McTernan PG, Kusminski CM, Kumar S. Resistin. *Curr Opin Lipidol*. 2006;17(2):170-5.
272. Koskinen A, Vuolteenaho K, Moilanen T, Moilanen E. Resistin as a factor in osteoarthritis: synovial fluid resistin concentrations correlate positively with interleukin 6 and matrix metalloproteinases MMP-1 and MMP-3. *Scand J Rheumatol*. 2014;43(3):249-53.
273. Song YZ, Guan J, Wang HJ, Ma W, Li F, Xu F, et al. Possible Involvement of Serum and Synovial Fluid Resistin in Knee Osteoarthritis: Cartilage Damage, Clinical, and Radiological Links. *J Clin Lab Anal*. 2016;30(5):437-43.
274. Siqueira MB, Frangiamore S, Klika AK, Gajewski N, Barsoum WK, Higuera CA. Comparison of Synovial Fluid Cytokine Levels between Traumatic Knee Injury and End-Stage Osteoarthritis. *J Knee Surg*. 2017;30(2):128-33.
275. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem*. 1996;271(18):10697-703.
276. Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(6):1595-9.
277. Nigro E, Scudiero O, Ludovica Monaco M, Polito R, Schettino P, Grandone A, et al. Adiponectin profile and Irisin expression in Italian obese children: Association with insulin-resistance. *Cytokine*. 2017;94:8-13.
278. Polyzos SA, Kountouras J, Shields K, Mantzoros CS. Irisin: a renaissance in metabolism? *Metabolism*. 2013;62(8):1037-44.
279. Kazama K, Usui T, Okada M, Hara Y, Yamawaki H. Omentin plays an anti-inflammatory role through inhibition of TNF- α -induced superoxide production in vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol*. 2012;686(1-3):116-23.

280. Panagiotou G, Mu L, Na B, Mukamal KJ, Mantzoros CS. Circulating irisin, omentin-1, and lipoprotein subparticles in adults at higher cardiovascular risk. *Metabolism*. 2014;63(10):1265-71.
281. Kwaśniewska M, Kostka T, Jegier A, Dziańkowska-Zaborszczyk E, Leszczyńska J, Rębowska E, et al. Regular physical activity and cardiovascular biomarkers in prevention of atherosclerosis in men: a 25-year prospective cohort study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2016;16:65.
282. Singh G, Miller JD, Lee FH, Pettitt D, Russell MW. Prevalence of cardiovascular disease risk factors among US adults with self-reported osteoarthritis: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Manag Care*. 8. United States 2002. p. S383-91.
283. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T. Association of knee osteoarthritis with the accumulation of metabolic risk factors such as overweight, hypertension, dyslipidemia, and impaired glucose tolerance in Japanese men and women: the ROAD study. *The Journal of rheumatology*. 2011;38(5):921-30.
284. Rahman MM, Kopec JA, Anis AH, Cibere J, Goldsmith CH. Risk of cardiovascular disease in patients with osteoarthritis: a prospective longitudinal study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013;65(12):1951-8.
285. Prior JA, Rushton CA, Jordan KP, Kadam UT. Comorbidity Cohort (2C) study: cardiovascular disease severity and comorbid osteoarthritis in primary care. *BMC Health Serv Res*. 2012;12:295.
286. Miyamoto-Mikami E, Sato K, Kurihara T, Hasegawa N, Fujie S, Fujita S, et al. Endurance training-induced increase in circulating irisin levels is associated with reduction of abdominal visceral fat in middle-aged and older adults. *PLoS One*. 2015;10(3):e0120354.
287. Gmiat A, Mieszkowski J, Prusik K, Kortas J, Kochanowicz A, Radulska A, et al. Changes in pro-inflammatory markers and leucine concentrations in response to Nordic Walking training combined with vitamin D supplementation in elderly women. *Biogerontology*. 2017;18(4):535-48.

