



Trabajo Fin de Grado

Irisina; situación actual y su relación con el metabolismo energético durante el ejercicio

Irisin; current situation and its relation with energy metabolism during exercise

Autor

ANXELA CRESTELO VIEITEZ

Director

Marisol Soria Aznar

Facultad de Medicina

Departamento de Fisiología
2017

Índice

ABREVIATURAS	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	6
OBJETIVOS	8
MATERIAL Y MÉTODOS	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
Metabolismo y funciones de la irisina	10
Mecanismos de regulación de la irisina	19
Métodos de determinación en plasma.....	20
Irisina en diferentes patologías	24
❖ <i>Irisina y síndrome metabólico</i>	24
❖ <i>Irisina y función renal</i>	26
❖ <i>Irisina y función tiroidea</i>	27
❖ <i>Irisina y cáncer</i>	27
❖ <i>Irisina y metabolismo lipídico</i>	27
❖ <i>Irisina y sistema nervioso</i>	28
Irisina y su relación con el metabolismo energético durante el ejercicio.....	29
CONCLUSIONES	36
BIBLIOGRAFÍA	38

ABREVIATURAS

125I = Yodo radioactivo-125.

Aa = aminoácido.

ADN = Ácido desoxiribonucleico.

ARNm = RNA mensajero.

ATP = adenosín trifosfato.

BDNF = factor neurotrófico derivado del cerebro.

dl = decilitro.

DM2 = Diabetes Mellitus tipo 2

ELISA = Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay.

FNDC5 = Fibronectin type III domain-containing protein 5 (precursor irisina).

IMC = Índice de masa corporal.

kDa = kilodaltons.

ml = mililitro.

NAFLD = hígado graso no alcohólico (non-alcoholic fatty liver disease).

ng = nanogramos.

PCR = Reacción en cadena de la polimerasa.

PGC-1 α = Coactivador transcripcional del receptor.

PPAR γ = Receptor del peroxisoma gamma activado por el proliferador

RNA = Ácido ribonucleico.

SPECT/TC = Tomografía computarizada de emisión monofotónica/Tomografía computarizada.

VO₂ = Consumo máximo de oxígeno.

UCP-1 = proteína desacopladora tipo 1.

RESUMEN

Introducción: La irisina fue descubierta en el año 2012 por un grupo de investigadores que observaron una transformación del tejido adiposo blanco en tejido adiposo marrón a través de una vía hasta entonces desconocida, promovida por el ejercicio. Esto provocaba un aumento de la capacidad termogénica del tejido adiposo blanco, y todo ello fue atribuido a una nueva hormona a la que denominaron irisina. Los estudios pioneros le otorgaron unos efectos beneficiosos muy prometedores sobre el metabolismo energético, el glucolípido, y también efectos protectores sobre enfermedades, como el Alzheimer, y en consecuencia, numerosos estudios han intentado detallar la fisiología de la irisina, pero los resultados arrojados son contradictorios, llegando a cuestionarse la existencia de esta hormona. Esta revisión pretende actualizar la información sobre el tema y presentar y comparar los resultados de diferentes estudios sobre la irisina, y más específicamente, sobre su relación con el metabolismo energético durante el ejercicio.

Material y métodos: se realiza una búsqueda bibliográfica en varias bases de datos, utilizando como herramienta principal PubMed, recopilando artículos originales, revisiones y metaanálisis recientes, pertenecientes a los últimos 10 años.

Resultados: Los hallazgos contradictorios referentes a la función de la irisina y a sus mecanismos de regulación y secreción son una constante a lo largo de la bibliografía consultada. Los efectos del ejercicio sobre FNDC5/irisina en modelos animales han sido demostrados, pero en humanos estos efectos no son generalizables y sus funciones son cuestionables, por lo que es necesario un número mucho mayor de estudios para demostrarlo. Así mismo, los mecanismos de procesamiento y medición de la irisina así como la identificación de los receptores y las vías mediante las que esta hormona ejerce su acción requieren también mayor investigación. Aun así, la irisina parece tener efectos beneficiosos en el organismo, por lo que la investigación futura puede ser clave para su uso terapéutico.

Conclusiones: la irisina es una hormona secretada en varios lugares del organismo con diferentes órganos diana, cuyos efectos beneficiosos han sido objetivados en modelos animales aunque con ciertas discrepancias en humanos. Por otro lado, a la vista de los resultados obtenidos en esta revisión, es probable que existan factores adicionales que ayuden y condicionen a la irisina en sus funciones sobre el metabolismo.

Palabras clave: “irisin”, “exercise”, “FNDC5”, “myokine”, “metabolism”.

ABSTRACT

Introduction: Irisin was discovered in 2012 by a group of researchers who appreciated a transformation of the white adipose tissue to the brown adipose tissue through a previously unknown pathway promoted after exercise. This caused an increase in the thermogenic capacity of the white adipose tissue, and all of this was attributed to a new hormone which they named irisin. Pioneering studies have provided irisin a very promising beneficial effects on the energy metabolism, glycolipid, protective effect on diseases, such as Alzheimer, and because of that, many studies have tried to detail the physiology of irisin, but contradictory results began to appear, leading to question the existence of this hormone. In this review, I pretend to update the current information on this subject and to introduce and to compare the results of different studies about irisin, and more specifically, about its relation with energy metabolism during the exercise.

Material and methods: A bibliographic search was carried out in several databases, emphaaizing the use of PubMed, collecting original articles, reviews and recent metaanalysis, belonging the vast majority to the last 10 years.

Results: The contradictory findings about the function of irisin and its mechanisms of regulation and secretion are a constant throug the consulted bibliography. The effects of exercise on FNDC5 / irisin in animal models have been demonstrated, but in humans these effects are not generalizable and their functions are questionable, so a much longer number of studies are needed to demonstrate this. In fact, the mechanisms of processing and detection of irisin as well as the identification of the receptors and the ways in which this hormone exerts its action also require further investigation. Despite of this, irisin seems to have beneficial effects on the organism, so the future research may be the key to its therapeutic use.

Conclusions: Irisin is a hormone secreted in several places of the organism with different target organs, whose beneficial effects have been objectified in animal models although with some discrepancies in humans. On the other hand, according to the results obtained in this review, it is probable that there are additional factors that help and condition the irisine in its functions on the metabolism.

Key words: "irisin", "exercise", "FNDC5", "myokine", "metabolism".

INTRODUCCIÓN

El efecto protector del ejercicio frente a enfermedades relacionadas con la inflamación crónica es bien conocido, y esto podría estar relacionado con el efecto anti-inflamatorio que el músculo generaría durante la realización de ejercicio de forma regular. Se ha postulado que el tejido muscular esquelético es un órgano dinámico que juega un rol fundamental en la homeostasis metabólica y que, además, se trata de un órgano endocrino muy activo, con una capacidad de producción de cientos de proteínas, especialmente durante o inmediatamente después de la actividad física, de las cuales solo algunas han llegado a conocerse hasta el día de hoy.^{1,2}

Las proteínas y péptidos producidos, expresados, y liberados por el músculo como consecuencia de la actividad contráctil, se denominan mioquinas, y tienen la capacidad de influir en el metabolismo y modificar la producción de citoquinas en diferentes tejidos y órganos.³

Entre las mioquinas parcialmente estudiadas en la actualidad, se encuentra la irisina. Descubierta en el año 2012, se trata de una hormona polipeptídica de 112 aminoácidos, cuyo dominio es la proteína FNDC5 y cuyos mediadores en músculo esquelético son el receptor activado de proliferación de peroxisomas γ (PPAR γ) y su coactivador transcripcional 1 α (PGC 1 α).⁴

La irisina fue descrita tras los hallazgos de un grupo de investigadores que manifestaron que tras una secuencia de actividad física en ratas, el músculo aumentaba la expresión de la proteína FNDC5 y a su vez se secretaba y aumentaban los niveles de una proteína en sangre, la cual inducía en el tejido adiposo blanco un proceso termogénico, pues lograba un aumento de la biogénesis mitocondrial en dicho tejido y lograba la aparición de elementos característicos del tejido adiposo pardo, incrementando y simulando por tanto la capacidad termogénica del mismo.^{4,5}

A la vista de estos resultados, se consideró que la irisina era algo así como una señal-puente de comunicación entre el gasto energético del músculo y el tejido adiposo, mejorando el perfil metabólico de este último, así como incrementando el gasto energético de todo el organismo, por lo que se postuló la irisina como un objetivo

potencial para el tratamiento de enfermedades metabólicas, ya que además diferentes evidencias e investigaciones pusieron de manifiesto que la hormona también tenía un efecto antidiabético al influir en el metabolismo de la glucosa, así como se demostró una asociación inversa con el hígado graso y una correlación positiva con la foliostatina, un péptido que regula el crecimiento muscular, entre otros efectos beneficiosos.⁶

Sin embargo, tras los primeros estudios prometedores sobre la irisina y sus múltiples ventajas, han surgido detractores y controversias sobre la realidad actual de la proteína. Algunas de las más extendidas, referidas a inconsistencias entre diferentes estudios sobre el papel regulador del ejercicio sobre la misma, sobre sus mecanismos de detección, y, además, distintos autores han coincidido en indicar que la irisina se relaciona con IMC elevados, es decir, en personas obesas los niveles de irisina están más altos que en personas de constitución delgada, lo cual es incongruente con los resultados de las primeras investigaciones, encontrándose también diferencias en los niveles de irisina entre personas en situación de enfermedad y en aquellas sanas.⁷⁻⁸

Los hallazgos de los estudios más recientes, explican una ausencia de relación entre los resultados obtenidos en ratas y los observados en humanos, incluso hay inter e intra variabilidad en las investigaciones dentro de las mismas especies. Ante estos nuevos datos, la asociación de la irisina y su papel como puente entre el ejercicio físico y la homeostasis del metabolismo energético que se propuso en un primer momento, ha quedado en entre dicho, y, considerando la falta de consenso entre los diferentes autores y estudios, así como el ritmo creciente de publicaciones sobre el tema, en esta revisión se pretende actualizar los conocimientos y controversias actuales en torno a esta interesante proteína y los posibles cauces que podrían seguir futuras investigaciones sobre el tema.

OBJETIVOS

1. Revisar y actualizar los conocimientos sobre el metabolismo de la irisina.
 - a. Revisar los datos relativos a su secreción,
 - b. Revisar los datos relativos en cuanto a su transporte,
 - c. Revisar los datos relativos sobre su eliminación,
 - d. Revisar los datos relativos sobre su vida media.
2. Revisar los datos actuales relativos a su regulación en plasma.
3. Revisar los datos actuales respecto a sus funciones en distintos órganos
 - a. Función en músculo esquelético.
 - b. Función en tejido adiposo.
4. Revisar los métodos de determinación de esa sustancia en plasma.
5. Revisar los datos existentes de su relación con diferentes patologías.
6. Analizar la relación de la irisina con el metabolismo energético durante el ejercicio y comparar resultados entre las diferentes investigaciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio es una revisión de tipo bibliográfica donde se incluyeron en la búsqueda 76 artículos científicos, de los cuales 18 son revisiones bibliográficas, 55 artículos originales de investigación, 1 es un libro, y 2 son metaanálisis. Los artículos obtenidos fueron obtenidos de la base de datos Pubmed, Elsevier y Scielo, del 1 al 15 de febrero, y del 1 al 30 de abril de 2017. Dicha búsqueda se ha limitado a publicaciones de menos de 10 años de antigüedad, excepto el libro utilizado, del año 2006, y en la búsqueda se han utilizado las palabras clave “irisin”, “mioquinas”, “FNDC5”, “ejercicio”, “músculo esquelético”, “miokine”, “tejido adiposo”, “UCP-1”, “biogénesis mitocondrial”, “espectrometría de masas”, “exercise”, “glucose”, “metabolism”, y los booleanos and y or.

El criterio por el que se han escogido los artículos ha sido, principalmente, el grado de coincidencia del contenido, y su relevancia y actualidad con el tema de estudio que ocupa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.- Metabolismo y funciones de la irisina.

El receptor activado de proliferación de peroxisomas (PPAR γ) y su coactivador transcripcional 1 α (PGC-1 α) han sido ampliamente descritos como claves en la modulación de mecanismos biológicos implicados en el metabolismo energético.

PGC-1 α es un coactivador de la transcripción que presenta una fuerte acción estimuladora de la expresión de determinados genes. Una expresión elevada del RNA del PGC-1 α se ha observado en el tejido adiposo pardo y musculo esquelético de ratas expuestas al frío y en el músculo esquelético tras el ejercicio, debido a un estímulo relacionado con la biogénesis mitocondrial, dando como resultado efectos beneficiosos sobre la inflamación y las enfermedades crónicas. Acorde con estos descubrimientos, se descubrió que ratas transgénicas que sobreexpresaban PGC-1 α eran resistentes a la ganancia de peso relacionada con la edad y mostraron una mejor sensibilidad a la insulina. Todos estos descubrimientos sugerían que existía un factor derivado del músculo esquelético que se comunicaba con el resto del organismo, y, concretamente, con el metabolismo energético del mismo.^{9, 10}

En 2008 un grupo de investigadores postuló que la PGC-1 α era la clave de porque el ejercicio tenía tantos efectos beneficiosos sobre la salud y por qué protegía de enfermedades que la vida sedentaria favorecía. Defendieron que este estilo de vida inactivo llevaba consigo una reducción real y objetivada de la expresión de PGC-1 α en el músculo esquelético, y esto sería la causa de un estado proinflamatorio crónico que afectaría de forma negativa al resto del organismo, y que, induciendo la sobreexpresión de este coactivador, las enfermedades de tipo metabólico, sobre todo aquellas relacionadas con la obesidad, reducirían su prevalencia. Algunos de los efectos protectores que adjudicaron a la PGC-1 α eran inducir una mayor vascularización del músculo, incrementar su capacidad de detoxificación de las especies reactivas del oxígeno, mejorar las capacidades metabólicas de este tejido mediante la biogénesis mitocondrial y, sobre todo, la inducción de la expresión de toda una serie de genes implicados en los efectos beneficiosos del ejercicio, desde enzimas oxidativas a posibles factores secretados por el músculo (ver Figura 1).¹⁰

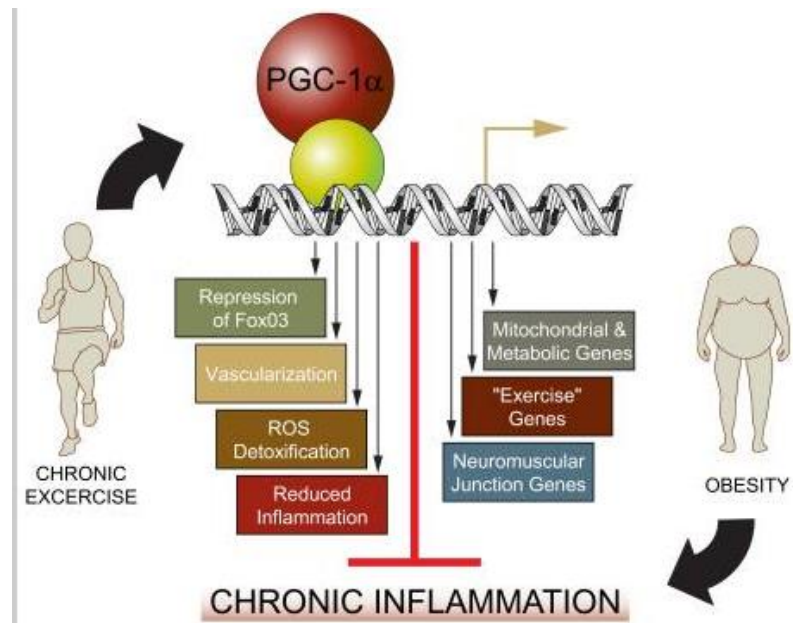


Figura 1; efecto protector de PGC-1 α en el músculo esquelético.¹⁰

La sospecha de que existían factores proteicos derivados del músculo con una función endocrina sobre otros órganos llevó a diferentes investigadores a realizar una serie de estudios para intentar demostrar esta hipótesis. En estas investigaciones se observó que los ratones manipulados genéticamente que sobreexpresaban PGC-1 α en el músculo eran resistentes a la ganancia de peso y a la diabetes, y al estudiar el estado metabólico de estos animales, descubrieron que en su tejido adiposo existían una serie de características que aumentaban su capacidad termogénica, ya que el tejido adiposo blanco de estos roedores mostraban modificaciones propias del tejido adiposo pardo, encargado del mantenimiento de energía a través de la generación de calor, y, por tanto, con una capacidad mayor de termogénesis. Lo denominaron fenómeno de “browning”, y posteriormente fueron muchos los autores que se interesaron por este proceso. En estos adipocitos “marrones” la función primordial es quemar directamente nutrientes, sin producir ATP, como si se produce en el caso de los adipocitos blancos que almacenan energía, y queman estos nutrientes como un horno generando calor. Esta característica se debe a su elevado contenido mitocondrial y a la proteína especializada denominada *uncoupling protein 1* (UCP1). Esta proteína desacopladora promueve la fuga de protones a través de la membrana interna mitocondrial, disipando energía en forma de calor. Por ello estas células protegen contra la hipotermia en la mayoría de los mamíferos y desempeñan un papel natural contra la obesidad y la diabetes (figura 2).¹¹,

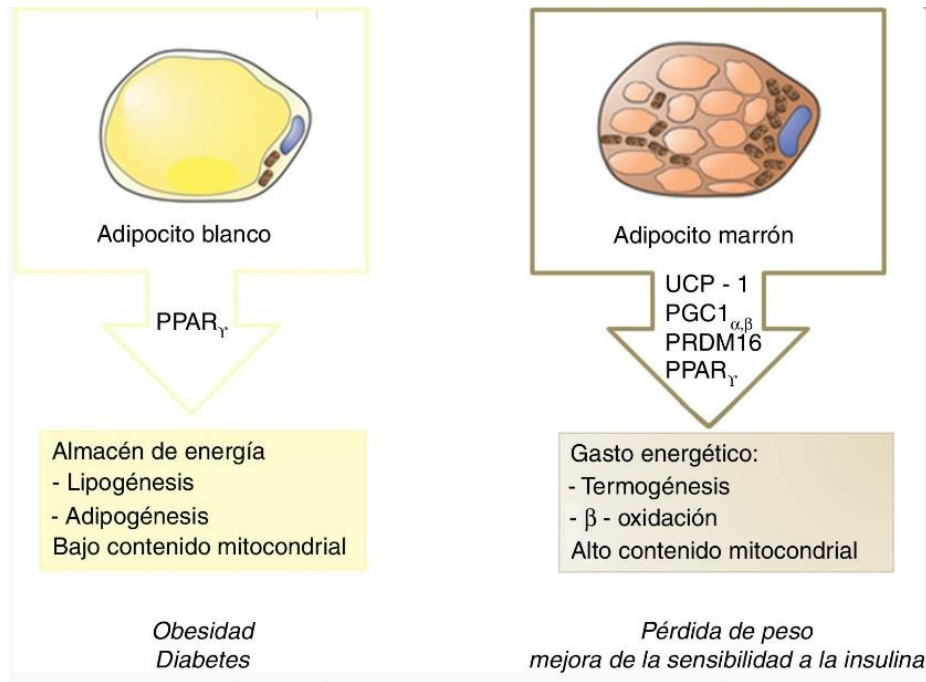


Figura 2; principales diferencias entre tejido adiposo blanco y marrón.¹¹

En el año 2012, Boström et al identificaron un nuevo péptido secretado por el tejido muscular, y pusieron de relieve su papel como mensajero entre el musculo esquelético y otras partes del cuerpo. En su estudio, concluyeron que existía un mecanismo mediado por una proteína por el cual tras realizar ejercicio físico se incrementaba el gasto calórico total del organismo, no sólo por la acción local sobre la fibra muscular, sino porque se desencadenaba en otros tejidos del cuerpo un complejo proceso que aumentaba la biogénesis mitocondrial y la capacidad termogenica del tejido adiposo, entre otras funciones.⁴

En su investigación con ratas, demostraron que, tras el ejercicio, se incrementaba el ya conocido PGC-1 α , y éste actuaba sobre los genes de las fibras musculares provocando un aumento de una proteína llamada fibronectin type III domain containing (FNDC5), una proteína con 5 dominios que tenía 212 aminoácidos en humanos y 209 en ratas, y que se caracterizó como una proteína de 20 kDA, que tras su escisión por proteólisis, glicosilación y dimerización de su extremo N-terminal, daba lugar a su forma soluble y activa, de 112 aminoácidos y similar composición tanto en ratas como en humanos que actuaba desde el tejido muscular esquelético promoviendo la termogénesis en el tejido adiposo blanco (ver figura 3). Se trataba de una molécula de 12 kDA que por su forma de actuación podría calificarse como hormona termogénica.^{4, 13}

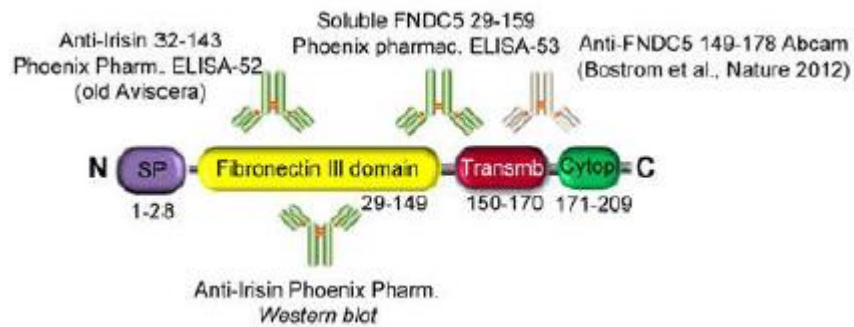


Figura 3; representación esquemática de la proteína FNDC5, mostrando la ubicación de sus aminoácidos, incluyendo los epítomos reconocidos por diferentes anticuerpos comerciales.³⁴

Mientras se buscaba caracterizar y precisar el origen de la irisina en el músculo en diferentes situaciones, se observó que el tejido adiposo blanco de las ratas era capaz de secretar la misma hormona, por lo que se le dio la consideración añadida de adipoquina. Sin embargo, ya entonces se dieron las primeras controversias, puesto que se demostró que el tejido adiposo blanco de las mismas secretaba un 28% aproximadamente de la irisina total en sangre, mientras que en humanos, la secreción del tejido adiposo comparada con la del músculo esquelético era casi inapreciable en determinadas situaciones, siendo mayor la secreción por parte de este tejido en individuos con mayor IMC, lo cual resulta algo incongruente con la denominación primaria de hormona termogénica, aunque el hecho de que además de una mioquina se considerara una adipoquina, podría explicar parcialmente el hecho de que en obesos la irisina tuviera concentraciones más elevadas que en individuos con menor IMC.^{4,14}

En el trabajo de Roca-Rivada et al. se evaluó la secreción de irisina por el tejido adiposo debida al ejercicio. Sus resultados indican que el tejido adiposo blanco aumenta la secreción de FNDC5/irisina tras la práctica de ejercicio a corto plazo (una semana), mientras que tras tres semanas de ejercicio se produce una disminución en su secreción. Este hecho, unido a la observación de las semejanzas entre el patrón de liberación de FNDC5/irisina con respecto a otras adipoquinas, sugiere un posible feedback en el que el tejido adiposo podría ser susceptible a las concentraciones circulantes de FNDC5/irisina.^{11, 14}

Otros estudios in vitro dieron a conocer que cuando esta hormona se añadía al tejido adiposo blanco, durante las primeras fases del desarrollo celular, las células de este

tejido se transformaban en células beige o pardas, expresando la proteína UCP-1, e incrementando y asemejando su capacidad termogénica a la del tejido adiposo marrón (ver figura 4).^{11, 15, 16}

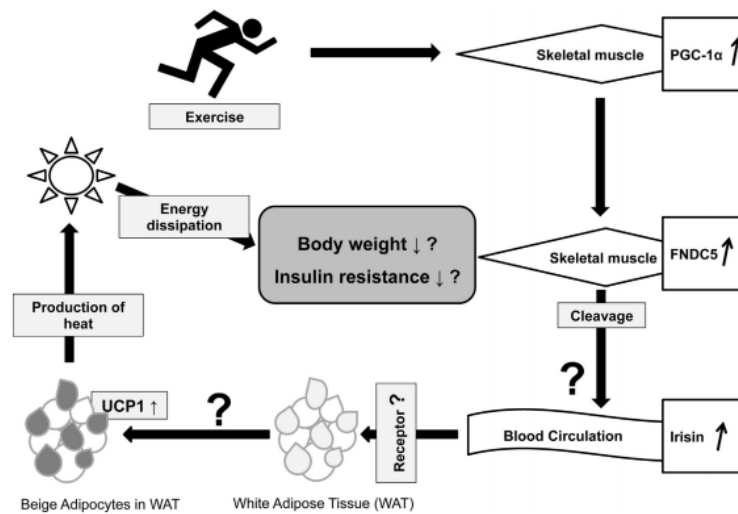


Figura 4; Propuesta de mecanismo de FNDC5 / irisina para estimular el gasto energético. Indicadas con interrogación las vías en las que han aparecido resultados polémicos.²³

Spiegelman et al. investigaron el efecto de la irisina en el tejido adiposo. En un cultivo primario de adipocitos de tejido adiposo blanco, cultivaron células musculares que expresaban PGC-1α, y vieron que las células expresaban RNA de proteínas del tejido adiposo pardo. Estos investigadores consiguieron aislar mediante un método con chips de expresión génica, una serie de proteínas secretadas por el músculo esquelético y reguladas por PGC-1α, entre ellas FNDC5 y su fracción activa, la irisina, que en los cultivos primarios de adipocitos demostró ser el responsable del fenómeno de “browning”. De hecho, la administración in vitro de FNDC5 a adipocitos blancos les confería positividad frente a UCP1, a la vez que elevaba la tasa de consumo de oxígeno y el gasto energético (ver figura 5).^{10, 11, 17}

En cuanto a la distribución y eliminación de la proteína, un estudio mediante irisina radiomarcada con 125I y técnicas de SPECT/TC, describió la distribución de la irisina in vivo. El estudio fue realizado en ratones y las imágenes de SPECT/TC revelaron el nivel más alto de radioactividad en la vesícula biliar, seguida por el hígado y el riñón. La radioactividad disminuyó gradualmente con el tiempo en todos los órganos. La radioactividad en el sistema gástrico alcanzó su nivel más alto a los 60 min. Como último dato, este estudio demostró que el aclaramiento metabólico de I-irisina se logra principalmente a través del sistema hepatobiliar y renal.¹⁸

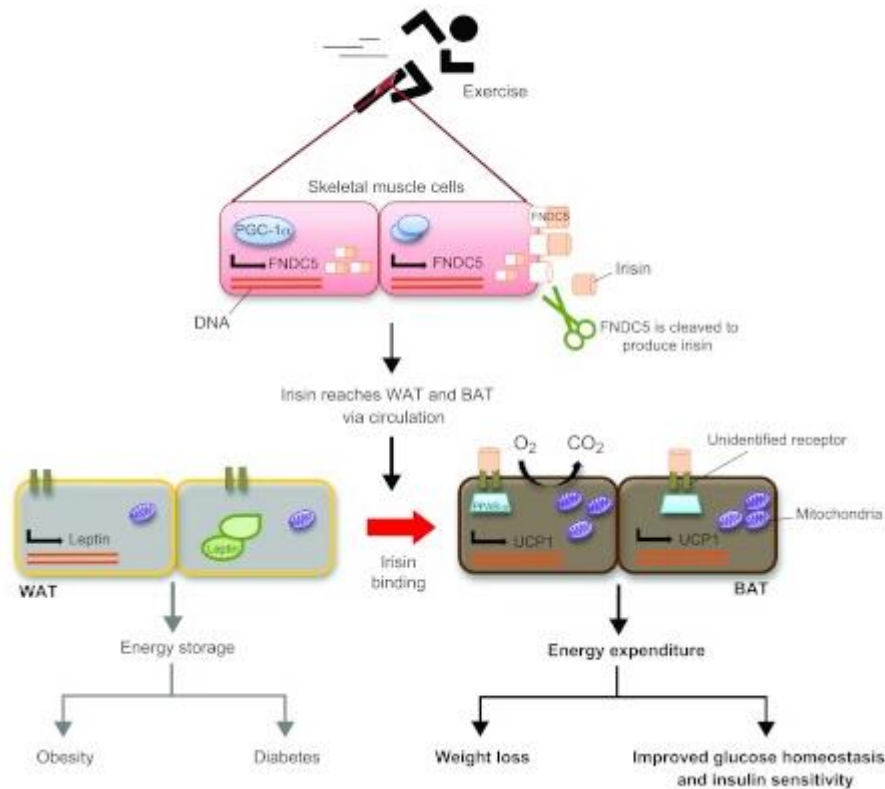


Figura 5; esquema del proceso de browning del tejido adiposo inducido por el ejercicio mediante PGC-1 α e irisina. El ejercicio aumenta los niveles de expresión de PGC-1 α en el músculo. Esto, a su vez, regula la expresión de FNDC5, una proteína de membrana, que es secretada como irisina en la circulación. La unión de irisina a un receptor en la superficie de los adipocitos del tejido adiposo blanco cambia su perfil genético. En particular, la irisina aumenta la expresión de UCP1 (altamente expresada en la grasa parda). El pardeamiento de la grasa blanca se asocia con aumento de la densidad mitocondrial, el consumo de oxígeno, un aumento en el perfil de gasto de energía y efectos favorables sobre el metabolismo.¹⁹

Nuevos estudios analizaron y demostraron efectos beneficiosos de la irisina sobre el metabolismo, tanto en ratas como en humanos. Una de las primeras funciones que se le otorgaron a la hormona, fue la de su modulación positiva en el síndrome metabólico. En un estudio se detectaron niveles inversamente proporcionales de irisina e hipertrigliceridemia en obesos, y otro grupo de investigación demostró que en la población obesa, la explicación de por qué en unos subgrupos la pérdida de peso y el gasto calórico era mayor que en otro, se debía a la presencia de niveles superiores de irisina en plasma.^{20, 21}

En las reiteradas investigaciones en poblaciones obesas, siendo un tema tan específico, ya existen controversias, ya que hay autores que han encontrado mayores niveles de proteína en sangre en grupos con sobrepeso, y otros grupos ofrecen datos que demuestran lo contrario.^{16, 22, 23}

En dos estudios independientes se comprobó una reducción de los niveles en sangre de irisina tanto en pacientes diabéticos delgados por un lado, como en pacientes obesos enfermos de diabetes tipo 2, sin relación entre las investigaciones.^{16, 23, 24}

Otra de las funciones en las que se estudió la influencia de la irisina es la homeostasis de la glucosa. En una investigación en una serie de hombres no diabéticos, las concentraciones circulantes de irisina parecen presentar una correlación positiva con la sensibilidad a la acción de la insulina aludiendo a un papel beneficioso de irisina en la homeostasis de la glucosa, posiblemente como una consecuencia del aumento en la actividad física. No obstante, el análisis de la expresión de FNDC5 en músculo en una cohorte de 118 sujetos no muestra asociación con la homeostasis de la glucosa. Son reiteradas las controversias sobre este tema en diferentes investigaciones. Otro ensayo original demostró que la irisina estimula la captación de glucosa mediante la activación de AMPK α 2 en células musculares en un mecanismo que implica la translocación de p38 MAPK-GLUT4 (figura 6). Todos estos hallazgos proporcionan una visión de las funciones hipoglucémicas de la irisina, pero, como veremos en apartados posteriores, no hay consenso sobre su función concreta en el metabolismo glucolipídico.^{11, 22, 24}

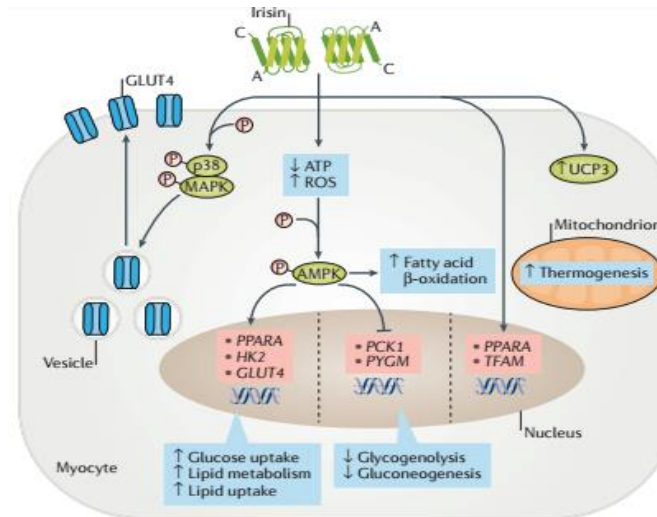


Figure 2 | Candidate signalling pathways of irisin in myocytes. Irisin can activate the AMP-activated protein kinase (AMPK) pathway by reducing intracellular ATP levels, or by increasing reactive oxygen species (ROS) or intracellular calcium concentrations. Activation of the AMPK pathway stimulates the expression of *GLUT4* (also known as *SLC2A4*), *HK2* and *PPARA* genes and inhibits the expression of *PYGM* and *PCK1* (also known as *PEPCKC*). The high expression of *GLUT4* and *HK2*, combined with the increased translocation of *GLUT4* protein from the cytoplasm to the membrane (mainly via the p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway), induces glucose uptake by myocytes. Conversely, inhibition of *PYGM* and *PCK1* expression reduces glycogenolysis and gluconeogenesis. In addition, the increased expression of *PPARA* stimulates lipid metabolism. The irisin-AMPK pathway also increases fatty acid β -oxidation. Finally, irisin stimulates biogenesis in mitochondria by regulating the expression of *PPARA* and *TFAM* genes and of *UCP3* protein.

Figura 6; esquema sobre la fisiología de la irisina en el metabolismo de la glucosa.¹³

Por otro lado, en cuanto a la secreción y al peso de la irisina, los datos obtenidos mediante técnicas de inmunodetección mostraron una serie de discrepancias con respecto al peso de la irisina y de su modificación proteolítica, puesto que los tamaños de las bandas identificadas como pertenecientes a la irisina en ningún momento fueron inferiores a 20 kDa (siendo identificada de forma primaria con 12kDa), y, utilizando anticuerpos específicos frente a la región endógena de la FNDC5, se detectaron grandes cantidades de la proteína completa en el medio de cultivo. Estos datos sugieren que la proteína FNDC5 puede ser secretada también en su forma completa y que todavía hace falta más conocimiento sobre los mecanismos exactos mediante los cuales la irisina es secretada por parte de las células del músculo esquelético.^{6,25}

Una de las preguntas más relevantes y de mayor importancia surgió intentando conocer si la irisina solo era secretada por el músculo esquelético y el tejido adiposo, o si existían más tejidos que la sintetizaran.

Existen estudios que utilizando técnicas de PCR detectaron FNDC5 no solo en el músculo esquelético, sino también en otros órganos, como pericardio, lengua, y recto, también en nervio óptico y cerebro, y niveles bastante más bajos en riñón, hígado o

pulmón. Además, RNA de FNDC5 y de irisina se describió no solo en el tejido adiposo de roedores, también aparecía en cardiomiocitos y cerebelo y, en humanos, aparecía cierta expresión en tejido adiposo, líquido cefalorraquídeo, y mamas de mujeres en periodo de lactancia. Finalmente se detectó irisina no solo en el suero, sino también en saliva, importante este dato para futuros estudios no invasivos.^{9, 26}

Aunque el musculo esquelético, el hígado, el corazón y el cerebro, tanto en humanos como en ratas, han demostrado los más altos niveles de FNDC5, se ha demostrado la contribución de otros tejidos en cuanto a la liberación de irisina a la circulación sistémica a través de numerosos estudios.^{25, 27, 28}

En los estudios originales y pioneros, como el de Bostrom et al., se describió la expresión de irisina de forma más fuerte en corazón y cerebro; en los testículos y pulmón la irisina se expresaba de manera más débil, y existía ausencia de su expresión en bazo y riñón. A pesar de que los resultados más ambiguos sobre su síntesis se dieran sobre el musculo esquelético, la expresión en el mismo se confirmó mediante un análisis más extenso, que mostró una expresión bastante constante de ARNm de FNDC5 en el músculo esquelético desde el día embrionario 15,5 hasta la edad adulta.^{4, 29}

Un ensayo más reciente que utilizó muestras de tejidos humanos adultos utilizando un método de PCR cuantitativo dio como resultado un patrón que confirma parcialmente la presencia de irisina en el músculo esquelético. Este ensayo demostró también que existe una fuerte presencia de irisina en pericardio y recto, moderada en corazón, arterias intracraneales, lengua y nervio óptico, y muy poca expresión fue encontrada en el cerebro, contradiciendo los resultados previos en ratas de los estudios anteriores y de los originales.²⁵

En relación al tipo de ejercicio que promueve la secreción de la irisina, diferentes estudios demostraron que el aumento de expresión en el músculo de FNDC5 se daba únicamente en ejercicios intensos y cortos en personas sedentarias y no en personas que realizaban ejercicio físico de manera regular, así como se observó un aumento de los niveles de irisina en un grupo de jóvenes sin entrenar, por lo que de nuevo se puso en evidencia que el ejercicio practicado de forma continua fuera el origen de la secreción de la irisina por parte del músculo esquelético.^{25, 30}

Son numerosos los autores que alaban y destacan las investigaciones originales sobre la irisina, pero no son menos aquellos que demandan una mayor investigación y conocimiento sobre sus efectos en el organismo, sus mecanismos de detección y sus factores reguladores, ya que los estudios existentes no son concluyentes. Son muchas las controversias que han ido surgiendo, incluso en aspectos muy concretos, como son los niveles de irisina en diferentes estados patológicos.

Por lo anteriormente expuesto, el mecanismo por el cual se produce un aumento de los niveles de FNDC5 e irisina tras el ejercicio no está todavía totalmente demostrado. Actualmente se demanda mayor conocimiento e investigación futura sobre la irisina y sus funciones sobre el organismo.³¹

2.- Mecanismos de regulación de la irisina

La expresión de FNDC5 en el músculo esquelético en un estudio con humanos se correlacionaba de manera consistente con la expresión de PGC-1 α , lo que concordaba con los descubrimientos originales de que en el músculo esquelético la irisina se relacionaba y regulaba a través del ejercicio.^{25, 28, 32}

Algunas investigaciones cuestionaron si la regulación positiva de FNDC5 en el músculo esquelético estaba realmente relacionada con el ejercicio. Utilizando una tecnología avanzada, encontraron que FNDC5 aumentaba en el músculo después del ejercicio sólo en sujetos de edad avanzada y no en jóvenes. Estos hechos son similares a los presentados en el estudio pionero sobre irisina de Boström et al. Por ello concluyeron que FNDC5 probablemente no era regulada a través de una vía primaria en respuesta al ejercicio, ya que está demostrado que los beneficios del ejercicio en la salud se producen sin relación alguna con la edad. En su respuesta a esta crítica, Boström et al. señalaron que en el estudio sus autores no identificaron en ningún momento PGC1- α como un gen regulado por el ejercicio, apenas mencionando su relación con FNDC5 e irisina, cuestionando la validez general de su ensayo.^{30, 34}

Algunos artículos como el de Huh et al. también han demostrado que la pérdida de peso disminuía los niveles circulantes de irisina en plasma, tanto en humanos como en ratas.

En dichos estudios se demostró que los niveles de irisina volvían a la normalidad cuando los sujetos recuperaban su peso inicial. Esto podría deberse a la secreción de irisina a través del tejido adiposo, aunque hay que reseñar que esta secreción en humanos es mucho menor que en roedores, por lo que habría que investigar de manera más exhaustiva el por qué de estas variaciones.^{8, 25}

El estudio de Huh et al., uno de los más completos y reveladores en cuanto a la fisiología de la irisina en humanos, presentó datos moleculares y clínicos de estudios transversales e intervencionistas, y concluyó que la masa muscular es el predictor primario de la concentración de irisina circulante en plasma, siendo directamente proporcional a sus niveles. En su investigación vieron que los niveles circulantes de irisina aumentaron en respuesta al ejercicio agudo y disminuyeron después de la pérdida de peso inducida quirúrgicamente. También incluyen en sus conclusiones posibles sesgos debidos a sus propias limitaciones y de cómo son necesarios más estudios para descubrir los mecanismos subyacentes a la regulación de los niveles de irisina, así como sus efectos fisiológicos en los seres humanos.²⁵

3.- Métodos de determinación en plasma

La determinación de irisina en plasma también es objeto de controversia y debate debido a que en diferentes estudios se observó que, incluso dentro de las mismas especies, los niveles de irisina eran muy diferentes y variables, siendo las concentraciones en humanos desde 0,01 ng/ml hasta 2000 ng/dl, lo que puso en duda la validez de los diferentes ensayos en humanos.^{8, 31, 34, 35}

Estas discrepancias podrían deberse a las diferencias metodológicas de determinación utilizadas en los diferentes ensayos como se mencionó en el apartado de metabolismo, ya que no existe un verdadero consenso sobre qué proceso es capaz de dar lugar a la parte soluble y medible en plasma de la proteína, y por lo tanto una de las divergencias surgidas se debe al uso de diferentes anticuerpos, no existiendo homogeneidad entre las distintas casas comerciales que han desarrollado anticuerpos para la detección de la molécula de irisina.

Las técnicas de detección empleadas en los diferentes estudios revisados en este trabajo han sido inmunoensayos tipo ELISA, la técnica PCR o reacción en cadena de la Polimerasa, la utilización de chips de detección génica o microarrays de ADN, Western Blote, y las más utilizadas son las técnicas proteómicas, con su máximo representante, la espectrometría de masas.^{6, 36, 37, 38}

Boström et al. utilizaron técnicas de Western Blot, utilizando un anticuerpo policlonal de la casa comercial “*ABCAM*”. Este anticuerpo se describe en el catálogo de *ABCAM* como un péptido que corresponde a la porción C-terminal aa 149-178 del FNDC5 humano (la irisina correspondía a la porción N-terminal). Este péptido contiene principalmente el segmento transmembrana, y no incluye ninguna secuencia del péptido de irisina. De hecho, la propia casa comercial dejó constancia de que no dan seguridad de que el anticuerpo se una a la irisina escindida. En resumen, se pone en evidencia que con este método se demostrará que la irisina realmente esté presente en el plasma humano.^{4, 32}

La mayoría de los estudios han utilizado anticuerpos comerciales de validez cuestionable, pues varios utilizaron el mencionado anteriormente de la casa *ABCAM*.

Otras casas comerciales en la descripción de sus anticuerpos utilizan la expresión “FNDC5 C-term” siendo altamente sospechosos de ser similares a los de *ABCAM*. Además otro anticuerpo utilizado por varios investigadores basado en mecanismos de inmunorreacción con irisina recombinada, fue retirado a lo largo del tiempo por la propia casa comercial que tenía su patente, y, en definitiva, ninguno de estos anticuerpos ha sido validado por análisis de Western Blot adecuados, según los estudios (ver figura 7).

14, 32

Box 1 Irisin ELISAs
<p>EK-067-52 (Phoenix Pharmaceuticals)*</p> <ul style="list-style-type: none"> • Published detection range: 0.328–204.9 ng/ml; minimum detection level: 4.15 ng/ml; linear range: 4.15–40.9 ng/ml • It measures above the expected values but has a spectrum of optical density values for standard concentrations that is wider than EK-067-29 • Measured irisin levels fall consistently in the linear range⁴² • Western blot analysis using the antibody of this ELISA kit detects a band at 25 kDa for recombinant irisin • It detects concentration spikes after the addition of recombinant irisin to the samples; limited availability • EK-067-52 is the best validated ELISA kit to date
<p>EK-067-29 (Phoenix Pharmaceuticals)*</p> <ul style="list-style-type: none"> • Published detection range: 0.1–1,000 ng/ml; minimum detection level: 1.29 ng/ml; linear detection range: 1.29–27.5 ng/ml • It measures irisin concentrations within the expected range according to tandem mass spectrometry • Western blot analysis using the antibody of this ELISA kit detects three bands at 25 kDa (glycosylated twice), 22 kDa (glycosylated once) and 15 kDa (unglycosylated) • The protein sequence detected in western blot analyses matches the sequence of irisin identified by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry⁷³ • According to our observations, irisin concentrations measured with EK-067-29 often fall outside the linear range; the standard curve does not correlate well with the one of EK-067-52 • Owing to the limited availability of EK-067-52, EK-067-29 is the best currently available irisin ELISA kit
<p>AG-45A-0046EK-k101 (Adipogen)*</p> <ul style="list-style-type: none"> • Published detection range: 1–5,000 ng/ml; sensitivity: 1 ng/ml • It seems to measure concentrations of irisin one order of magnitude higher than EK-067-52 or EK-067-29, and much higher than the values expected from mass spectrometry
<p>CSB-EQ027943HU (Cusabio)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Published detection range: 3.12–200 ng/ml; sensitivity: 0.78 ng/ml; linear range: ~6.25–50 ng/ml (REFS 27,60) • It has only been used in a limited number of studies^{27,60} • It measures concentrations of irisin that are above the expected values and nonsignificantly higher than the concentrations obtained with EK-067-29 (REF: 27) • It has not been further evaluated
<p>SEN576Hu (Cloud-Clone Corp.)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Published detection range: 0.015625–1.0 ng/ml • It has not been compared with other assays • The reported range for this antibody is far below the expected values in humans
<p>*These three ELISA kits have been used in more than 90% of the studies.</p>

Figura 7; tabla comparativa de los principales anticuerpos utilizados en las investigaciones sobre la irisina.¹³

Es notable lo que algunos investigadores revelaron sobre la estructura proteica de la irisina. FNDC5 en su estructura comienza con un codón de aminoácidos atípico, y aunque actualmente son muchos los RNAs conocidos de organismos eucarioticos que comienzan con codones atípicos, algunos autores discreparon en que esto se debía a una mutación nula y que la irisina en humanos no se producía en realidad. Estos autores defienden que si la FNDC5 existe en los humanos es por una mutación de un codón más habitual, y que por lo tanto la irisina como tal en el organismo es un mito, ya que las bandas secretadas que se observan con la técnica de espectrometría de masas podrían ser secretadas en su forma completa, FNDC5, o ser proteínas inespecíficas que hacían reacción cruzada con el anticuerpo (ver figura 8).^{39, 40, 41, 42}



Figura 8; comienzo con el codón atípico de la molécula de irisina.⁴²

A pesar de que algunos autores se opongan a la existencia real de la irisina circulando por plasma humano, son muchas las líneas de investigación que han surgido para demostrar la presencia de la secuencia aminoacídica de la irisina en muchos mamíferos.

Estos estudios utilizan en su mayor parte la espectrometría de masas dirigida, que, tras la eliminación de la albúmina e inmunoglobulinas y la deglicosilación completa de las muestras de plasma, detectaron una banda de proteínas con una masa molecular de 12 kDa, la masa molecular esperada de la irisina deglicosilada. Además, estos investigadores confirmaron que, en humanos, la irisina se traduce principalmente a través del codón ATA no canónico (atípico). Esto se demostró mediante un análisis específico de espectrometría de masas dirigido, utilizando dos péptidos únicos para la secuencia de irisina.^{13, 39}

El estudio de Jedrychowski et al., es de referencia en cuanto a ser la más actualizada demostración de la presencia de irisina en plasma. Los autores hablan de fallos metodológicos graves en los ensayos de aquellos autores que se oponen a que la irisina sea real; hablan de que la técnica de espectrometría de masas utilizada seleccionó de manera aleatoria los péptidos a estudio, de manera que determinados péptidos que podrían resultar interesantes pudieron ser desechados en muestras donde fueran poco abundantes. Refieren también fallos en las enzimas usadas para la deglicosilación de la

irisina, y su reivindicación principal es que los autores de dichos estudios ponen sus límites de detección en 100 ng/dl, cuando muchas otras investigaciones demostraron niveles de irisina por debajo de este límite.^{39, 43, 44}

Este estudio habla también de la concentración de irisina; se midió en suero humano con un promedio de 3,6 ng/ml en cuatro individuos sedentarios y un promedio de 4,3 ng/ml en seis individuos sometidos a tratamiento de entrenamiento aeróbico intensivo. Los autores también indicaron que los niveles de irisina podrían incluso subestimarse, ya que es probable que cierta cantidad de proteína se perdiera durante la preparación de la muestra. Más o menos de un 10 a un 30 % de pérdidas.^{13, 39}

En definitiva, de momento todavía son un número pequeño las investigaciones relacionadas con la detección en plasma de la irisina. Los hallazgos encontrados hasta ahora necesitan ser reproducidos y comprobados de forma independiente por un número mayor de investigadores.

4.- Irisina en diferentes patologías

4.1.-Irisina en el síndrome metabólico

Son muchos los estudios que han investigado la relación entre el IMC y la irisina. Al principio, la mayoría de los estudios mostraron una correlación positiva entre este índice y la hormona, en un rango amplio de sujetos, que iban desde pacientes con anorexia nerviosa, hasta pacientes obesos. De hecho, los pacientes con anorexia nerviosa tenían niveles significativamente inferiores que las personas de peso normal y las personas con obesidad. También se observó una relación positiva entre la irisina y la masa magra. Sin embargo, un estudio posterior cuyos sujetos iban desde un IMC normal hasta sujetos con sobrepeso, no detectó ninguna asociación. Y otro estudio que investigó a 29 sujetos con obesidad mórbida concluyó una correlación negativa entre el IMC y la irisina, que podría ser debida a factores que influenciaran su expresión, sin haber podido ser especificados. De manera global, la mayoría de los estudios se postulan hacia la corriente de que los niveles de irisina se elevan con el incremento de peso. Si esta elevación se debe a un crecimiento del músculo o a un aumento de la grasa todavía no está establecido puesto que ambos tejidos expresan RNAm de FNDC5.^{13, 22}

La pérdida de peso conduce a una disminución significativa de la irisina circulante (15%), mientras que la recuperación del peso devuelve los niveles de irisina a sus niveles basales. La mayoría de estos estudios también mostraron una correlación positiva entre los niveles circulantes de irisina y el peso, la grasa y, ocasionalmente, la relación cintura-cadera. En individuos sanos, la mayoría de la irisina en la sangre deriva de las células musculares, pero en la obesidad, la cantidad de irisina secretada del tejido adiposo es probablemente mayor que en los estados magros debido al aumento de la masa total de grasa.^{13,45}

Existen otros estudios, incluidos en un metaanálisis, que explican que esta asociación entre irisina e IMC se debe a que en los pacientes obesos existe un mecanismo desconocido para compensar la resistencia a la insulina y potenciar los efectos hipoglucemiantes y termogénicos de la irisina, en busca del equilibrio metabólico, aumentando por tanto los niveles de la misma.⁴⁶

Como la irisina está asociada con el IMC y la resistencia a la insulina, cabría esperar que los niveles de irisina fueran mayores en las poblaciones con DM2. Sin embargo, la mayoría de los estudios clínicos, incluyendo un metaanálisis, han reportado niveles más bajos de irisina en pacientes con prediabetes o DM2, que en los pacientes sanos.^{13,47}

Investigadores coreanos realizaron un estudio en el que concluyeron que los sujetos con DM2 tenían niveles de irisina menores que aquellos sanos y que, además, el aumento de los niveles de irisina en plasma se relacionaba de manera inversamente proporcional con el diagnóstico de nuevos casos de DM2.⁴⁸

Son varios los estudios que se inclinan hacia esta corriente, donde se informan de niveles de irisina en plasma significativamente menores en los individuos diagnosticados de DM2 frente a los controles no diabéticos.^{22,49}

Sin embargo, un estudio reciente informó que los niveles de irisina elevados se asocian a resistencia a la insulina en los sujetos obesos. Los autores especularon que la obesidad y el síndrome metabólico podrían causar resistencia a la irisina, una hipótesis que cuestiona el uso terapéutico esperado de este péptido para el tratamiento de la obesidad.^{22,50}

Del mismo modo, otra investigación en mujeres embarazadas con diabetes mellitus gestacional mostraron mayores niveles circulantes de irisina en comparación con controles no embarazadas no diabéticos.^{22, 51}

El estudio realizado por Park et al. alude a un mayor riesgo de manifestar síndrome metabólico en aquellos pacientes con concentraciones más elevadas de irisina.⁵²

El por qué de estas divergencias es desconocido; se cuestionan varias hipótesis, como que pueden deberse al grado de deterioro de la homeostasis de la glucosa, diferentes orígenes étnicos, el sexo (mayores niveles circulantes de irisina en las mujeres frente a los hombres), y también a la utilización de diferentes anticuerpos y kits de ensayo, como ya se ha visto en el apartado de mecanismos de detección.^{24, 25}

En conjunto, estos hallazgos apuntan hacia una regulación negativa de la irisina en condiciones de deterioro del control de glucosa o diabetes mellitus. Sin embargo, la causalidad de esta asociación tiene que ser investigada en estudios de intervención, ya que la mayoría de los que existen hasta ahora son observacionales.

4.2.- Irisina y función renal

Un estudio taiwanés, posteriormente ratificado por otros autores, investigó los niveles plasmáticos de irisina en pacientes con enfermedad renal crónica en estadio 5, concluyendo que los niveles de irisina disminuyeron significativamente y se correlacionaron inversamente con el nitrógeno ureico y la creatinina en comparación con sujetos sanos de misma edad y sexo. Lo que se desconoce es si estas alteraciones reflejan principalmente la disminución de la masa muscular, propia de estos pacientes, o se deben a otras causas.^{52, 53}

Otro estudio más reciente concluyó que las concentraciones de irisina disminuyeron con el aumento de la etapa de la enfermedad renal crónica, y demostraron que no sólo existe una relación con la función renal y la resistencia a la insulina, sino que también existe una asociación con sarcopenia y aterosclerosis carotídea en pacientes sometidos a diálisis peritoneal.^{54, 55}

4.3.- Irisina y función tiroidea

Ruchala et al., en el año 2014, relacionaron las concentraciones de irisina plasmática con la función y producción de hormonas tiroideas, demostrando que los niveles de irisina son menores en pacientes con hipotiroidismo. Determinaron que existe una correlación positiva entre T4 libre y la concentración de irisina plasmática, así como que los pacientes que presentaban marcadores de daño muscular más elevados, estudiados mediante los niveles de creatin kinasa (CK), tenían menores concentraciones de irisina plasmática.^{11, 56}

4.4.- Irisina y cáncer

Son pocos los estudios disponibles hasta hoy. En 2014, existe una investigación que no demostró efectos de la irisina sobre la proliferación celular y la malignidad de células en pacientes obesos.⁵⁷

Otro estudio del mismo año concluyó que la irisina sí tenía un efecto supresor en el número de células y sus características migratorias, así como un efecto inductor de la apoptosis de las células malignas en el cáncer de mama.⁵⁸

En 2015 se observaron efectos beneficiosos de la irisina como potencial agente antitumoral, al inducir apoptosis celular, detención de la migración celular e invasión, aumento de la expresión de genes supresores, y disminución de protooncogenes.⁵⁹

4.5.- Irisina y metabolismo lipídico

Se ha demostrado una asociación inversa entre las concentraciones de irisina y de colesterol-HDL tanto en una cohorte de mujeres sanas como en pacientes con síndrome de hígado graso no-alcohólico (NAFLD). Además, observan que los pacientes con NAFLD presentan concentraciones de irisina menores, por lo que muestran a la irisina como un posible factor protector en la esteatosis hepática. Sin embargo, en pacientes con enfermedad renal crónica se ha visto una asociación positiva entre concentraciones de irisina con concentraciones de colesterol-HDL. Hasta el momento no se ha descrito un mecanismo directo que justifique el efecto de la irisina sobre el metabolismo del colesterol. No obstante, la presencia de esta asociación podría ser explotada debido a su

potencial efecto terapéutico. En esta misma línea se ha evaluado el efecto de fármacos hipolipemiantes sobre las concentraciones de irisina, observándose que el tratamiento con simvastatina aumenta sus concentraciones in vivo e in vitro sobre cultivo primario humano de músculo esquelético. Sin embargo, no puede descartarse que se deba al posible daño muscular causado por la estatina, lo que podría descubrir a la irisina como un biomarcador de daño muscular más sensible que los disponibles en la actualidad.¹¹

4.6.- Irisina y sistema nervioso

En 2012, un estudio descubrió que la irisina liberada por el músculo al realizar ejercicio de resistencia favorecía el crecimiento de nuevas células nerviosas.⁶⁰

Otros estudios posteriores en esta línea de investigación relacionaron a la irisina como responsable y mediadora en los efectos beneficiosos del ejercicio regular en la mejora de la función cognitiva, protegiendo contra la degeneración relacionada con la edad, y mejorando las capacidades de aprendizaje y memoria, mediante la expresión de un factor de crecimiento neurotrófico denominado BDNF (ver figura 9), y protegiendo de enfermedades como el alzheimer o la depresión. En 2014, unos investigadores demostraron que la irisina desaceleraba el proceso de envejecimiento mediante alargamiento de telómeros, y la describieron como una hormona neuroprotectora.^{61, 62, 63, 64, 65}

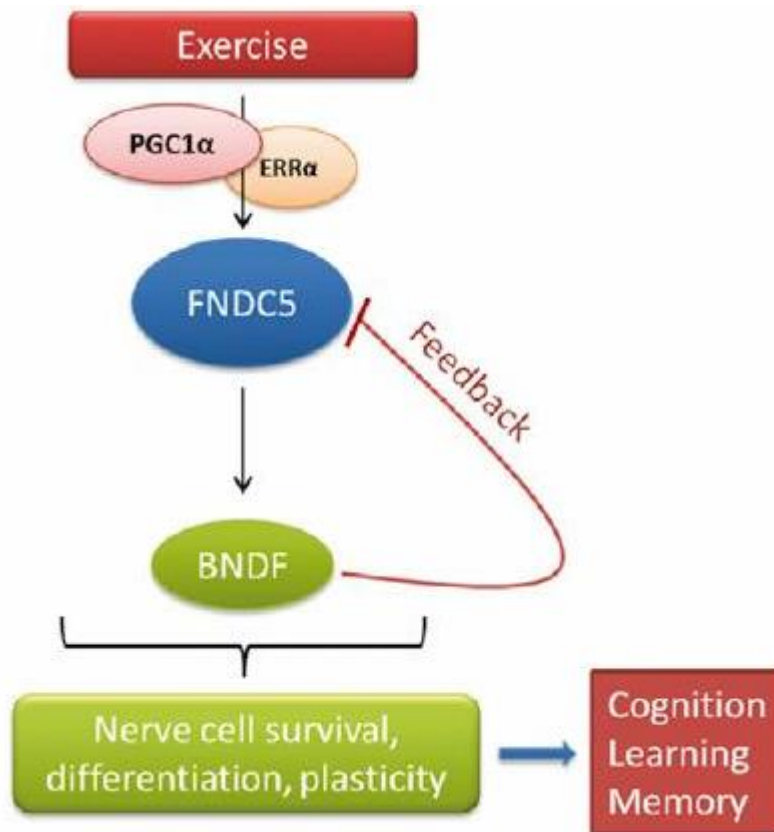


Figura 9; El ejercicio estimula la expresión del gen de la irisina (Fndc5) a través del complejo de transcripción PGC1-alfa. El aumento de la expresión del gen Fndc5 estimula a su vez al gen del BDNF, un regulador maestro de la supervivencia celular, diferenciación y plasticidad en el cerebro. Así se logra una mejora en la función cognitiva, el aprendizaje y la memoria, que son los beneficios que el ejercicio produce sobre el cerebro.⁶¹

5.- Irisina y su relacion con el metabolismo energético durante el ejercicio

Cuando descubrieron la irisina, Boström et al. concluyeron de forma inicial que esta se liberaba en base a la realización de ejercicio. Los niveles de irisina se elevaron en ratones después de tres semanas de ejercicio libre en rueda, hallazgo que confirmaron más tarde en ocho personas después de diez semanas de realización de ejercicios aeróbicos de resistencia.^{4, 13}

Posteriormente, Lecker et al. investigaron la expresión de ARNm de FNDC5 y PGC-1α en 24 pacientes con insuficiencia cardíaca y determinaron que los pacientes con insuficiencia cardíaca que poseen una mejor capacidad aeróbica tras ser evaluados mediante consumo máximo de oxígeno (VO2 máx), presentan niveles de irisina más elevados que aquellos con menor VO2 máx.⁶⁶

Ese mismo año, Huh et al. revelaron que los niveles circulantes de irisina en sujetos obesos aumentan después de 30 minutos de ejercicio anaerobico y se correlacionan positivamente con el nivel de ATP, metabolitos relacionados con lipólisis y glucólisis en el músculo, así como con la circunferencia de bíceps, siendo la masa muscular el predictor más fuerte de los niveles circulantes de irisina.^{25, 66}

En concordancia a estos estudios, otros investigadores observaron un aumento significativo de mRNA FNDC5 en el músculo esquelético después de una combinación de 12 semanas de ejercicios aeróbicos y entrenamiento de resistencia con una elevación significativamente mayor en un grupo con pre-diabetes y con sobrepeso en comparación con varones sanos y de peso normal.⁶⁷

Tsuchiya et al, en el año 2014, compararon un protocolo de alta intensidad al 80% del VO₂ máx, versus un protocolo de baja intensidad al 40% del VO₂ máx, obteniendo como resultado que la respuesta de liberación de irisina depende de la intensidad del ejercicio, ya que el grupo de ejercicio de alta intensidad, quienes mostraron niveles de lactato más altos, presentaron concentraciones plasmáticas de irisina más altas que sus niveles de pre-ejercicio, y en relación al grupo de ejercicio de baja intensidad.⁶⁸

Otros investigadores también han demostrado un aumento de 3,6 ng/ml a 4,3 ng/ml en los niveles de irisina en sangre después de 12 semanas de entrenamiento aeróbico de alta intensidad en humanos, comparando a cuatro individuos sedentarios y seis entrenados mediante intervalos de ejercicio aerobico.³⁹

En ratones, el nivel de irisina detectado mediante técnicas de Western Blot también fue dos veces más alto en el músculo esquelético y 1,5 veces más alto en sangre después de una sesión de ejercicio en rueda, pero sin un cambio acompañante en los niveles de mRNA de FNDC5. El análisis inmunohistoquímico mostró que la irisina se localizó extracelularmente entre las fibras musculares. Si el aumento de los niveles de irisina después del ejercicio agudo es el resultado del aumento de la secreción fisiológica de las células musculares o de la liberación debido a daño muscular sigue siendo desconocido (ver figura 10).⁶⁹

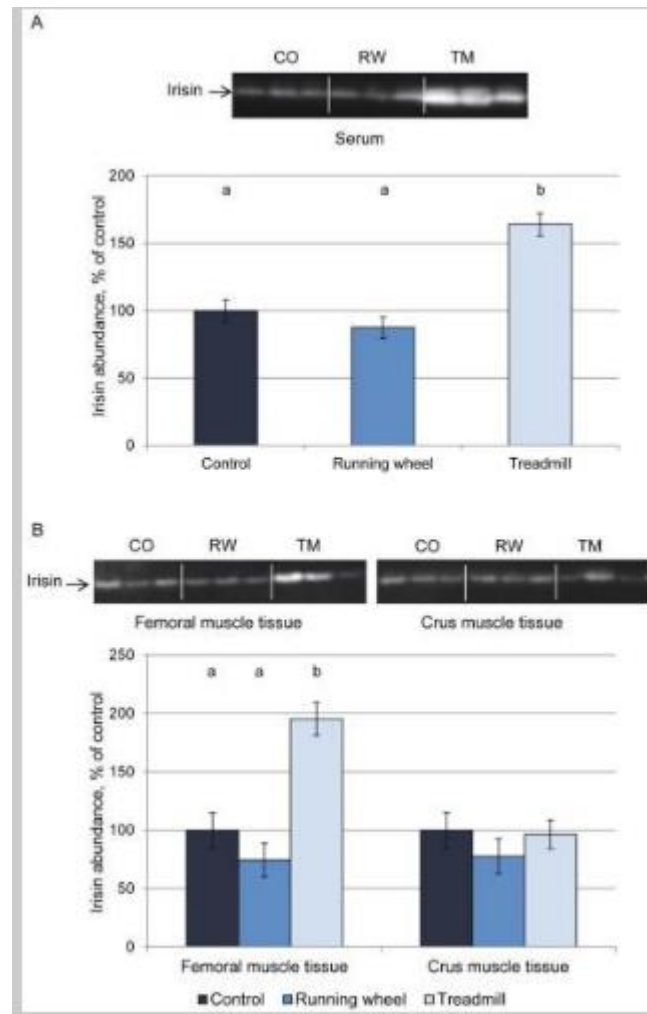


Figura 10; Presencia de proteína de irisina en (A) suero y (B) tejido muscular de ratas después de 3 semanas de ejercicio voluntario corriendo o una sesión de ejercicio en la rueda respecto a un grupo de control sedentario.⁶⁹

En los seres humanos, la duración y el tipo de ejercicio parece ser importante para los cambios en los niveles circulantes de irisina. Por ejemplo, un ejercicio agudo vibratorio aumentó los niveles de irisina en un 9,5% en las mujeres sanas no entrenadas y tras 6 semanas de entrenamiento aumentaron los niveles de irisina en 18.1% en los mismos individuos. Sin embargo, los niveles de irisina en reposo tras estas 6 semanas volvieron a sus niveles originales, generando la hipótesis de que era el ejercicio agudo, y no el crónico, a diferencia de los que defendía Bostrom et al, lo que desencadena la liberación de irisina por parte del músculo.⁷⁰

En un tercer estudio publicado en un intento de aportar claridad a la relación entre irisina y ejercicio físico se sugiere de nuevo la importancia del tipo de ejercicio practicado (aeróbico vs. anaeróbico). Así, tras analizar las concentraciones circulantes de irisina en individuos jóvenes observan que aumentan tras 30' de ejercicio controlado

pero no tras 8 semanas, aludiendo a la repercusión que la presencia/ausencia de oxígeno podría tener a la hora de liberar esta mioquina. Sin embargo, las numerosas variables que intervienen durante el ejercicio podrían dificultar la identificación de componentes clave. En este sentido, se ha descrito que un estilo de vida activo aumenta las concentraciones circulantes de irisina en una cohorte de 427 sujetos (hombres y mujeres). Además, se ha comprobado que, en individuos sedentarios, las concentraciones de irisina se asocian positivamente con diversos parámetros relacionados con un aumentado riesgo cardiometabólico.⁶⁶

Otros estudios informaron que los niveles máximos de irisina se conseguían tras ejercicios agudos de 60 minutos, con vuelta a los niveles basales 6 horas después, pero que el ejercicio crónico (de 6 semanas a 1 año) no alteró los niveles circulantes de irisina. Kraemer et al. detectaron niveles de irisina aumentados transitoriamente durante una caminata de 90 minutos y Norheim et al. describieron una elevación inmediatamente después de 45 minutos de bicicleta ergométrica. Esto se continuaba con la disminución de los niveles basales al final del ejercicio, tras 90 minutos.^{43, 67, 71}

Nygaard et al. en el año 2015 demostraron que una sola sesión de ejercicio podría aumentar las concentraciones de irisina circulante. Lo que se determinó fue la respuesta aguda a un ejercicio de resistencia de tipo interválico de alta intensidad y a un ejercicio de fuerza intenso; en ambos protocolos de ejercicio la concentración de irisina en sangre aumentó. Estos hallazgos confirman lo planteado por otros autores que postulan que la irisina es una mioquina inducida por el ejercicio agudo y que su aumento es transitorio.⁶⁶

Además, se demostró que la exposición al frío aumenta la secreción de irisina en humanos, gracias probablemente a la contracción muscular. Se cree que esta contracción activa las mismas vías descendentes que se activan al realizar ejercicio.⁷²

Por otro lado, también se cuestionaron las bases fisiológicas de por qué la irisina se regulaba a través del ejercicio, y Huh et al. añadieron que además de la regulación positiva de PGC1- α sobre la expresión de FNDC5, la deprivación de las células musculares de ATP tras el ejercicio podría desencadenar la síntesis de FNDC5 y por tanto de irisina.⁷³

Sin embargo, las contradicciones no tardaron en aparecer. En 2015, de nuevo Tsuchiya et al. decidieron comparar la respuesta de la irisina frente a cuatro condiciones diferentes de ejercicio; anaerobico de baja intensidad, ejercicios de resistencia de intensidad intensa, ejercicio de resistencia a largo plazo, y ejercicios combinados con una resistencia de entrenamiento durante un período de 21 semanas en hombres de diferentes grupos de edad, y no se observaron grandes variaciones inter e intra individuales entre las concentraciones de irisina en el suero ni en la expresión en el músculo esquelético de FNDC5 o PGC-1 α . Sin embargo, un aumento 4 veces mayor de PGC-1 α en jóvenes, y un aumento 2 veces mayor en los hombres de más edad, se observó después de un protocolo de ejercicio de fuerza añadiendo más complejidad a la regulación de los mecanismos investigados. Además, las diferencias entre mRNA de PGC-1 α y los niveles de irisina en suero no se asociaron con alteraciones en el mRNA de FNDC5 conduciendo a la hipótesis de que otros factores distintos de PGC-1 α (como otras mioquinas), podrían contribuir a los cambios de FNDC5 e irisina. Se concluyó que la falta de asociación entre la expresión de FNDC5 y los niveles de irisina en sangre en este estudio puede indicar mecanismos reguladores adicionales para los niveles circulantes de irisina.^{13, 74}

Siguiendo en esta línea y de forma contraria al estudio preliminar, en el trabajo realizado por Timmons et al., empleando arrays de expresión génica, se detectó un aumento de la expresión de FNDC5 inducido por el ejercicio en individuos de avanzada edad, pero no en jóvenes.^{11, 30}

Del mismo modo, un estudio alemán no detectó cambios en las concentraciones séricas de irisina después de 6 meses de entrenamiento aeróbico o de entrenamiento de fuerza en un ensayo controlado aleatorio.⁷⁵

Siguiendo con los detractores, el estudio de Huh et al sobre un grupo de jóvenes sanos no detectó cambios en los niveles de irisina circulantes tras un programa de ejercicio de 8 semanas, y sin embargo, si que se observo un aumento en una subpoblación de sujetos no entrenados tras la realización de sprints. Esto vuelve a sugerir que la regulación es diferente según si el deporte se practica de forma aguda o crónica, y que puede existir un posible mecanismo de contra regulación o adaptación con el tiempo.²⁵

Del mismo modo, en otro estudio, la expresión de FNDC5 en el músculo humano permaneció inalterada después de un período de 8 semanas de un programa de entrenamiento de resistencia.⁷⁶

Análogamente, en una investigación en la que se llevó a cabo la contracción in vitro de las células del músculo esquelético humano usando pulsos eléctricos, esta estimulación aumentó los niveles de ARNm de PGC-1 α pero no tuvo efectos sobre los niveles de ARNm de FNDC5.⁴²

Aunque al principio se halló una concordancia total entre la irisina de roedores y humanos, es posible que parte de estos hallazgos contradictorios pudieran darse por diferencias entre ambas especies, dando lugar a una regulación diferente de este péptido a través del ejercicio. Sin embargo, también datos negativos han sido obtenidos en animales. En cerdos, no se observó ningún aumento de la expresión de FNDC5 después de 16-20 semanas de entrenamiento aeróbico, mientras que un aumento de la circulación de irisina fue observado en un grupo con hipercolesterolemia familiar pero no en cerdos sanos.³⁵

En otros estudios con animales, algunas investigaciones in vivo con diferentes protocolos de ejercicio físico tampoco detectaron una asociación entre los niveles de irisina o PGC1- α ni FNDC5 en los músculos de ratas Zucker obesas y en el músculo de ratas Zucker delgadas y se mantuvo sin cambios después de 9 semanas de entrenamientos aeróbicos en una plataforma motorizada.⁷⁷

Qiu y colaboradores, en su metaanálisis, analizaron el efecto del entrenamiento crónico en los niveles de irisina circulante en población adulta, el estudio incluyó 8 artículos, de los cuales dos, de tipo randomizado controlados obtuvieron resultados concluyentes; determinando que el entrenamiento crónico disminuye significativamente ($p < 0,05$) los niveles de irisina circulantes en el grupo control, y esto explicaría por qué la irisina no sólo es una mioquina sino que también es una adipoquina, por lo que al entrenar de manera crónica se modifica la composición corporal incluido el porcentaje de grasa, haciendo posible que la irisina disminuya en sangre. Sin embargo, al analizar los datos aislados del grupo entrenado (antes y después) se encontró que los niveles circulantes de

irisina estaban significativamente aumentados después del entrenamiento agudo, hallazgos consecuentes con lo inicialmente reportado por Bostrom y cols.⁶⁶

Las presentes discrepancias han intentado ser explicadas por diversos motivos; la diversidad de los tipos de ejercicio, las diferencias entre animales y humanos volviendo a caracterizar a FNDC5 como un pseudogen con un codón mutado y por lo tanto la imposibilidad de extrapolar los resultados de murinos a humanos, el alto grado de heterogeneidad que existen entre los diseños de los estudios, lo que hace a veces complicado generalizar conclusiones. Además la mayoría de los estudios en humanos tienen pocos participantes. Y los resultados en la mayoría de los casos se basaron en datos disponibles mediante pruebas de anticuerpos que como ya hemos visto fueron cuestionadas en cuanto a su sensibilidad. In vitro, la imitación del ejercicio no estimula la liberación de irisina por parte del musculo pero in vivo los resultados son variables. La mayor parte de las pruebas en humanos sugieren que los niveles de irisina se incrementan tras el ejercicio agudo, pero ya que in vitro se ha visto que la contracción no estimula la liberación de irisina, los altos niveles séricos que se observan tras el ejercicio agudo podrían ser el resultado de un daño muscular o de cambios bioquímicos o moleculares todavía no identificados.

En resumen y a la vista de estos hallazgos, los beneficios de la irisina parecen ser solamente relevantes en una población muy seleccionada. Si factores adicionales como la edad, el entorno, las diferencias entre especies, el momento de evaluación, etc, son los responsable de las diferencias y hallazgos encontrados, todavía no esta del todo acalarado.

CONCLUSIONES

- La irisina es una proteína de 112 aminoácidos, secretada como producto de la fibronectina tipo III teniendo en su dominio la proteína 5 (FNDC5), y es inducida por el receptor activado por proliferación de peroxisomas γ (PPAR γ) y el coactivador transcripcional 1- α (PGC-1 α) en el músculo esquelético.
- Se le ha otorgado la denominación de mioquina ya que se secreta en el músculo esquelético en relación a la contracción muscular por lo que es considerada ejercicio-dependiente.
- Se le ha otorgado también la denominación de adipoquina por ser secretada en el tejido adiposo.
- Otros de los tejidos donde se ha demostrado la presencia de irisina son la piel, hígado, riñón, músculo cardíaco, nervios, testículos, páncreas, bazo, cerebro y estómago.
- Su principal función objetivada y real es la transformación de los adipocitos blancos en grasa parda, altamente termogénica, en un proceso denominado “browning”
- Otros efectos de la irisina son el aumento de la biogénesis mitocondrial y del metabolismo oxidativo, así como la regulación sobre la homeostasis de la glucosa a través de la mejora de la sensibilidad a la insulina.
- Se le atribuyen efectos beneficiosos sobre diferentes patologías como el cáncer y enfermedades tiroideas, y el proceso de envejecimiento, sobre todo a nivel del sistema nervioso, aunque los mecanismos por los cuales realiza estas funciones no se conocen.
- Se desconocen las vías por las cuales la irisina ejerce sus funciones, la existencia o no de un receptor específico en el organismo, y es preciso aclarar sus mecanismos de secreción y de regulación.
- Respecto a la relación de la irisina y el ejercicio, existen diferencias entre la liberación de irisina tras el ejercicio agudo y tras el ejercicio crónico, siendo los ejercicios de fuerza y corta intensidad los que más han demostrado un aumento de los niveles en plasma.
- En la mayoría de estudios sobre la irisina y el ejercicio, las variaciones en la expresión de PGC-1 α no se acompañan de cambios correlativos en FNDC5, sugiriendo la existencia de otros factores que ayuden en la regulación.

- Existen numerosas discrepancias sobre todo en relación a la medición de irisina en el plasma y su mecanismo de liberación y activación a partir de FNDC5, por lo que son necesarios mejores diseños en los estudios futuros.
- La utilización de la irisina como agente terapéutico en relación al síndrome metabólico en humanos ha sido señalada, pero se necesitan investigaciones más exhaustivas para conocer y detallar la fisiología de esta proteína.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Pratesi A, Tarantini F, Di Bari. Skeletal Muscle; an endocrine organ. Clin Cases Miner Bone Metab. 2013; 10: 11-14.
- 2.- Pedersen BK. Exercise-induced myokines and their role in chronic diseases. Brain Behav Immun. 2011; 25(5):811-816.
- 3.- Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ; focus on muscle-derived interleukin 6. Physiological reviews. 2008; 88:1379-1406
- 4.- Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Hojlund K, Gygi SP, Spiegelman BM. A PGC1- α - dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. Nature. 2012; 481: 463–468.
- 5.- Rexford SA, Hyeong-Kyu P. Connecting Myokines and Metabolism. Endocrinol Metab. 2015; 30(3):235-245.
- 6.- Roca Rivada A. Identificación mediante proteómica de nuevas adipoquinas y mioquinas implicadas en la obesidad [tesis doctoral]. Santiago; Servicio de Publicacions e Intercambio Científico, Universidade de Santiago; 2013.
- 7.- Elsen M, Raschke S, Eckel J. Browning of white fat: does irisin play a role in humans? J endocrinol. 2014; 222(1):25-38.
- 8.- Crujeiras AB, Pardo M, Casanueva FF. Irisin; “fat” or artefact. Clin Endocrinol. 2015; 82(4):467-474.
- 9.- Vidal Bretal B. Expresión del gen FNDC5 tras la inducción de diabetes en ratas y tratamientos con leptina [tesis doctoral]. A Coruña, Facultade de Ciencias, Universidade da Coruña; 2016.

- 10.- Handschin C, Spiegelman BM. The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease. *Nature*. 2008; 454(7203):463-469.
- 11.- Moreno M, Moreno-Navarrete JM, Fernandez Real JM. Irisina: ¿transmisor de mensaje del Olimpo? *Clin Invest Arterioscl*. 2014; 26:140-146
- 12.- Eckardt K, Taube A, Eckel J. Obesity-associated insulin resistance in skeletal muscle: role of lipid accumulation and physical inactivity. *Rev Endocr Metab Disord*. 2011; 12(3):163-172.
- 13.- Perakakis N, Triantafyllou GA, Fernández-Real JM, Huh JY, Park KH, Seufert J, Mantzoros CS. Physiology and role of irisin in glucose homeostasis. *Nat Rev Endocrinol*. Feb 2017. (Online).
- 14.- Roca Rivada A, Castelao C, Senin LL, Landrove MO, Baltar J, Belen Crujeiras A, Seoane LM, Casanueva FF, Pardo M. FNDC5/irisin is not only a myokine but also an adipokine. *PLoS One*. 2013; 11; 8(4).
- 15.- Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nature Reviews Endocrinology*. 2012; 8(8):457-465.
- 16.- Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, Guerra E, Pardo G, Tinahones F, Ricart W, Fernández-Real JM. 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):769-778.
- 17.- Wenz T, Rossi SG, Rotundo RL, Spiegelman BM, Moraes CT. Increased muscle PGC-1alpha expression protects from sarcopenia and metabolic disease during aging. *Proc Natl Acad Sci*. 2009; 106(48):20405-20410.
- 18.- Lv J, Pan Y, Li X, Cheng D, Ju H, Tian J, Shi H, Zhang Y. Study on the distribution and elimination of the new hormone irisin in vivo: new discoveries regarding irisin. *Horm Metab Res*. 2015; 47(8):591-595.

- 19.- Castillo-Quan, Jorge Iván. From white to brown fat through the PGC-1 α -dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Dis Model Mech.* 2012; 5(3):293-295.
- 20.- Zhang HJ, Zhang XF, Ma ZM, Pan LL, Chen Z, Han HW, Han CK, Zhuang XJ, Lu Y, Li XJ, Yang SY, Li XY. Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults. *J Hepatol.* 2013; 59(3):557-562.
- 21.- 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):1070-1073.
- 22.- Hofmann T, Ulf E, Stengel A. Irisin as a muscle-derived hormone stimulating thermogenesis – A critical update. *Peptides.* 2014; 54:89–100.
- 23.- Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Elbett 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; 39:125-130.
- 24.- Hye JL, Jung OL, Nami Kin, Joong KK, Hyung IK. Irisin, a Novel Myokine, Regulates Glucose Uptake in Skeletal Muscle Cells via AMPK. *Mol Endocrinol.* 2015; 29(6): 873-881.
- 25.- Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, Mantzorosa CS. 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): 1725-1738.
- 26.- Aydin Sul, Aydin Sun, Kuloglu T, Yilmaz M, Kalayci M, Sahin I, Cicek D. Alterations of irisin concentrations in saliva and serum of obese and normal-weight subjects, before and after 45 min of a Turkish bath or running. *Peptides.* 2013; 50:13-18.

- 27.- Teufel A, Malik N, Mukhopadhyay M, Westphal H. Frbp1 and Frbp2, two novel fibronectin type III repeat containing genes. *Gene*. 2002; 297:79-83.
- 28.- Dun SL, Lyu RM, Chen YH, Chang JK, Luo JJ, Dun NJ. Irisin immunoreactivity in neural and non-neural cells of the rodent. *Neuroscience*. 2013; 240:155-162.
- 29.- Ferrer-Martínez A, Ruiz-Lozano P, Chien KR. Mouse PeP: a novel peroxisomal protein linked to myoblast differentiation and development. *Dev Dyn*. 2002; 224:154-167.
- 30.- Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene? *Nature*. 2012; 488(7413): 9-10.
- 31.- Cunha A. Basic research: Irisin--behind the benefits of exercise. *Nat Rev Endocrinol*. 2012; 8(4):195.
- 32.- Erickson HP. Irisin and FNDC5 in retrospect. An exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte*. 2013; 4:289-293.
- 33.- Ostadsharif M, Ghaedi K, Hossein Nasr-Esfahani M, Mojibafan M, Tanhaie S, Karbalaie K, Baharvand H. The expression of peroxisomal protein transcripts increased by retinoic acid during neural differentiation. *Differentiation*. 2011; 81:127-132.
- 34.- Elbelt U, Hofmann T, Stengel A. Irisin: what promise does it hold? *Curr Opin Clin Nutr Metab*. 2013; 16:541-547.
- 35.- Sanchis Gomar F, Alis R, Pareja Galeano H, Romagnoli M, Perez Quilis C. Inconsistency in circulating irisin levels: What is really happening? *Horm Metab Res*. 2014; 46:591-596.
- 36.- Clifton NJ. Direct ELISA. *Methods in molecular biology*. 2015; 1318:61-67.
- 37.- Coleman WB, Tsongalis, G. *Molecular Diagnostics: For the Clinical Laboratorian*. Humana Press. 2006; 47-56-65-74.

- 38.- Mahmood T, Yang PC. Western Blot: Technique, Theory, and Trouble Shooting. *N Am J Med.* 2012; 4(9):429-434.
- 39.- Jedrychowski MP, Wrann CD, Paulo JA, Gerber KK, Szpyt J, Robinson MM, Nair KS, Gygi SP, Spiegelman BM. Detection and Quantitation of Circulating Human Irisin by Tandem Mass Spectrometry. *Cell Metab.* 2015; 22(4):734-740.
- 40.- Starck SR, Jiang V, Pavon-Eternod M, Prasad S, McCarthy B, Pan T, Shastri N. Leucine-tRNA initiates at CUG start codons for protein synthesis and presentation by MHC class I. *Science.* 2012; 336:1719-1723.
- 41.- Albrecht E, Norheim F, Thiede B, Holen T, Ohashi T, Schering L, Lee S, Brenmoehl J, Thomas S, Drevon CA, Erickson HP, Maak S. Irisin - a myth rather than an exercise-inducible myokine. *Scientific reports.* 2015; 5:88-89.
- 42.- Raschke S, Elsen M, Gassenhuber H, Sommerfeld M, Schwahn U, Brockmann B, Jung R, Wisloff U, Tjonna AE, Raastad T, Hallen J, Norheim F, Drevon CA, Romacho T, Eckardt K, Eckel J. Evidence against a Beneficial Effect of Irisin in Humans. *PLoS ONE.* 2013; 8(9): e73680.
- 43.- 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. *Hormone and metabolic research.* 2014; 46(2):150-154.
- 44.- Kurdiová T, Balaz M, Vician M, Maderová D, Vlcek M, Valkovic L, Srbecký M, Imrich R, Kyselovicová O, Belan V, Jelok I, Wolfrum C, Klimes I, Krssák M, Zemková E, Gasperiková D, Ukropec J, Ukropcová B. 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):1091-1107.
- 45.- Crujeiras AB, Zulet MA, Lopez-Legarrea P, De la Iglesia R, Pardo M, Carreira MC, Martínez JA, Casanueva FF. 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; 63:520-531.

46.- Qiu S, Cai X, Yin H, Zügel M, Sun Z, Steinacker JM, Schumann U. Association between circulating irisin and insulin resistance in non-diabetic adults: A meta-analysis. *Metabolism*. 2016; 65:825-834.

47.- 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; 8:56-62.

48.- Choi YK, Kim MK, Bae KH, Seo HA, Jeong JY, Lee WK. Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013; 100:96-101.

49.- Liu JJ, Wong MD, Toy WC, Tan CS, Liu S, Ng XW. Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complicat*. 2013; 27: 365-369.

50.- Hee Park K, Zaichenko L, Brinkoetter M, Thakkar B, Sahin-Efe A, Joung KE, Tsoukas MA, Geladari EV, Huh JY, Dincer F, Davis CR, Crowell JA, Mantzoros CS. Circulating irisin in relation to insulin resistance and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98:4899–4907.

51.- Piya MK, Harte AL, Sivakumar K, Tripathi G, Voyias PD, James S, Sabico S, Al-Daghri NM, Saravanan P, Barber TM, Kumar S, Vatish M, McTernan PG. The identification of irisin in human cerebrospinal fluid: influence of adiposity, metabolic markers and gestational diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2014; 306(5):512-518.

52.- Park KH, Zaichenko L, Brinkoetter M, Thakkar B, Sahin-Efe A, Joung KE, Tsoukas MA, Geladari EV, Huh JY, Dincer F, Davis CR, Crowell JA, Mantzoros CS. Circulating irisin in relation to insulin resistance and the metabolic síndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99(5):1910.

- 53.- Wen MS, Wang CY, Lin SL, Hung KC. Decrease in irisin in patients with chronic kidney disease. PLoS ONE. 2013; 8:64025.
- 54.- Liu JJ, Liu S, Wong MD, Tan CS, Tavintharan S, Sum CF, Lim SC. Relationship between circulating irisin, renal function and body composition in type 2 diabetes. J Diabetes Complicat. 2013; 28(2):208-213.
- 55.- Gouveia MC, Vella JP, Cafeo FR, Affonso FL, Fonseca MR. Association between irisin and major chronic diseases: a review. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016; 20(19):4072-4077.
- 56.- Ruchala M, Zybek A, Szczepanek-Parulska E. Serum irisin levels and thyroid function-Newly discovered association. Peptides. 2014; 60:51-55.
- 57.- Moon HS, Mantzoros CS. Regulation of cell proliferation and malignant potential by irisin in endometrial, colon, thyroid and esophageal cancer cell lines. Metabolism 2014; 63(2):188-93.
- 58.- Gannon NP, Roger A. Vaughan RA, Garcia-Smith R, Marco 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; 136:197-202.
- 59.- Mazur-Bialy AI, Oplawski M, Wypasek E, Zarawski M. Irisin, a newly discovered adipomiokine; impairs growth and progression of breast cancer MDA-MB-231 cell line. Cytokine. 2015; 76:107
- 60.- Osthus IB, Sgura A, Berardinelli F, Alsnes IV, Bronstad E, Rehn T, Stobakk PK, Hatle H, Wisloff U, Nauman J. Telomere length and long-term endurance exercise: does exercise training affect biological age? A pilot study. PLoS One 2012; 7:e52769.
- 61.- Hashemi MS, Ghaedi K, Salamian A, Karbalaie K, Emadi-Baygi M, Tanhaei S, Nasr-Esfahani MH, Baharvand H. Fndc5 knockdown significantly decreased neural differentiation rate of mouse embryonic stem cells. Neuroscience 2013; 231:296-304.

- 62.- Moon HS, Dincer F, Mantzoros CS. Pharmacological concentrations of irisin increase cell proliferation without influencing markers of neurite outgrowth and synaptogenesis in mouse H19-7 hippocampal cell lines. *Metabolism*. 2013; 62:1131-1136.
- 63.- Silveira H, Moraes H, Oliveira N, Coutinho ES, Laks J, Deslandes A. Physical exercise and clinically depressed patients: a systematic review and meta-analysis. *Neuropsychobiology*. 2013; 67:61-68.
- 64.- Farina N, Rusted J, Tabet N. The effect of exercise interventions on cognitive outcome in Alzheimer's disease: a systematic review. *Int Psychogeriatr*. 2014; 26:9-18.
- 65.- Rana KS, Arif M, Hill EJ, Alfred S, Nagel DA, Nevill A, Randeva HS, Bailey CJ, Bellary S, Brown JE. Plasma Irisin levels predict telomere length in healthy adults. *Age*. 2014; 36:995-1001.
- 66.- Trujillo LM, García D, Von Oetinger A. Actualizaciones sobre "irisina"; la nueva mioquina. *Rev chil nutr*. 2016; 43(3) [online].
- 67.- Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, Holen T, Kielland A, Stadheim HK, Gulseth HL, Birkeland KI, Jensen J, Drevon CA. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1alpha, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. *Febs J*. 2014; 281(3):739-749.
- 68.- Tsuchiya Y, Ando D, Goto K, Kiuchi M, Yamakita M, Koyama K. High-Intensity Exercise causes Greater Irisin Response Compared With Low-Intensity Exercise under Similar Energy Consumption. *Tohoku J Exp Med*. 2014; 233:135-140.
- 69.- Brenmoehl J, Albrecht E, Komolka K, Schering L, Langhammer M, Hoeflich A, Maak S. Irisin is elevated in skeletal muscle and serum of mice immediately after acute exercise. *Int J Biol Sci*. 2014; 10:338-349.

- 70.- 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; 63:918–921.
- 71.- Pekkala S, Wiklund PK, Hulmi JJ, Ahtiainen JP, Horttanainen M, Pöllänen E, Mäkelä KA, Kainulainen H, Häkkinen K, Nyman K, Alén M, Herzig KH, Cheng S. Are skeletal muscle FNDC5 gene expression and irisin release regulated by exercise and related to health? *J Physiol.* 2013; 591:5393–5400.
- 72.- Lee P, Linderman JD, Smith S, Brychta RJ, Wang J, Idelson C, Perron RM, Werner CD, Phan GQ, Kammula US, Kebebew E, Pacak K, Chen KY, Celi FS. Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell Metab.* 2014; 19:302–309.
- 73.- 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.* 2014; 38:1538-1544.
- 74.- Tsuchiyaa Y, Ando D, Takamatsuc K, Goto K. Resistance exercise induces a greater irisin response than endurance exercise. *Metabolism.* 2015; 64:1042-1050.
- 75.- Hecksteden A, Wegmann M, Steffen A, Kraushaar J, Morsch A, Ruppenthal S, Kaestner L, Meyer T. Irisin and exercise training in humans-results from a randomized controlled training trial. *BMC Med.* 2013; 11:235.
- 76.- Besse-Patin A, Montastier E, Vinel C, Castan-Laurell I, Louche K, Dray C, Daviaud D, Mir L, Marques MA, Thalamas C, Valet P, Langin D, Moro C, Viguerie N. Effect of endurance training on skeletal muscle myokine expression in obese men: identification of apelin as a novel myokine. *Int J Obes.* 2014; 38:707–713.
- 77.- Peterson JM, Mart R, Bond CE. Effect of obesity and exercise on the expression of the novel myokines, Myonectin and Fibronectin type III domain containing 5. *Peer J.* 2014; 2:605.