

¿CÓMO CONSIGUE NUESTRA DIETA QUE SEAMOS LO QUE SOMOS?

POR EL ACADÉMICO DE NÚMERO

ILMO. SR. DR. D. JESÚS DE LA OSADA GARCÍA

DISCURSO LEÍDO EN LA SOLEMNE APERTURA DEL CURSO DE LA
ACADEMIA DE FARMACIA REINO DE ARAGÓN
EL DÍA 16 DE FEBRERO DE 2016

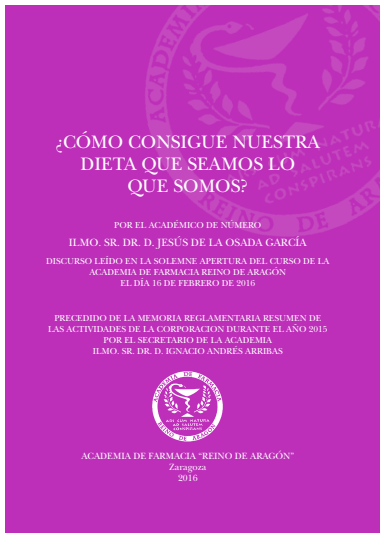
PRECEDIDO DE LA MEMORIA REGLAMENTARIA RESUMEN DE
LAS ACTIVIDADES DE LA CORPORACION DURANTE EL AÑO 2015
POR EL SECRETARIO DE LA ACADEMIA
ILMO. SR. DR. D. IGNACIO ANDRÉS ARRIBAS



ACADEMIA DE FARMACIA “REINO DE ARAGÓN”

Zaragoza

2016



Edita:

Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza

Distribuye:

Academia de Farmacia “Reino de Aragón”

Imprime:

Cometa, S.A.
Ctra. Castellón, km 3,400 – 50013 Zaragoza

Depósito Legal:

Z 109-2016

Sumario

<i>Composición de la Academia</i>	5
<i>Memoria reglamentaria del curso 2015</i>	9
<i>¿Cómo consigue nuestra dieta que seamos lo que somos?</i>	15
A. Introducción	17
B. MicroRNAs	18
C. Nutrición maternal y miRNAs	21
D. MicroRNAs y dieta	24
1. <i>Hígado</i>	24
2. <i>Células β del páncreas</i>	25
3. <i>MicroRNAs plasmáticos</i>	25
4. <i>Placas de crecimiento epifisarias</i>	26
E. MicroRNAs de los alimentos	26
1. <i>Alimentos vegetales</i>	26
2. <i>Leche</i>	29
F. Contaminación ambiental y miRNA	29
G. Mecanismos de acción	30
H. Potencial farmacológico	31
I. Conclusiones	32
J. Agradecimientos	33
Bibliografía	35

Composición de la Academia
Relación de académicos

Junta Directiva

Presidente: Excmo. Sr. D. Manuel José López Pérez
Vicepresidente: Ilmo. Sr. D. Santiago Andrés Magallón
Secretario: Ilmo. Sr. D. Ignacio Andrés Arribas
Vicesecretario: Ilmo. Sr. D. Julio Montoya Villarroya
Tesorero: Ilmo. Sr. D. Acisclo Pérez Martos
Bibliotecario: Ilmo. Sr. D. Pedro Roncalés Rabinal
Presidente Sección Biología Bioquímica y Biotecnología: Ilmo. Sr. D. Jesús de la Osada García

Académicos Fundadores

Excmo. Sr. D. Manuel José López Pérez
Ilmo. Sr. D. Santiago Andrés Magallón
Ilmo. Sr. D. Acisclo Pérez Martos

Académicos de Número

Ilmo. Sr. D. Julio Montoya Villarroya
Ilmo. Sr. D. Ignacio Andrés Arribas
Ilmo. Sr. D. Pedro Roncalés Rabinal
Ilmo. Sr. D. Jesús de la Osada García
Ilmo. Sr. D. Fausto García Hegardt
Ilma. Sra. Doña Carmen Torres Manrique
Excma. Sra. Doña María Del Carmen Francés Causapé

Académicos Correspondientes

Ilustre Sra. Doña Ángela Idoipe Tomás
Ilustre Sra. Doña Herminia Navarro Aznárez
Ilustre Sra. Doña Daría Bermejo Ramos
Ilustre Sr. D. Manuel Gómez Barrera
Ilustre Sra. Doña Francisca Muñoz Espílez
Ilustre Sr. D. Diego Marro Ramón
Ilustre Sr. D. Daniel Tabuenca Navarro
Ilmo. Sr. D. Benito del Castillo García
Ilustre Sra. M^a Luisa Bernal Ruiz

Académico de Honor Electo

Dr. José María Ordovás Muñoz

Académica Correspondiente Electa

Dra. M^a del Tránsito Salvador Gómez

Académicos Correspondientes Electos

Dr. Vicente Vilas Sánchez
Dr. Alberto Herreros de Tejada y López Coterilla

*Memoria reglamentaria
del curso 2015*

Ilmo. Sr. Dr. D. Ignacio Andrés Arribas

Secretario de la Academia

Excelentísimo señor Presidente
Excelentísimos Señores
Ilmos. Señoras y Señores académicos
Señoras y Señores:

Como secretario de la Academia de Farmacia «Reino de Aragón» y en cumplimiento de los objetivos fundacionales de la Academia paso a resumir las actividades científicas y representativas celebradas durante el curso 2015.

Una de las tareas más tristes y dolorosas es el momento de recordar a la compañera fallecida que tan tempranamente nos dejó el año pasado, la Académica de número Ilma. **Ana Isabel Alcalde Herrero**.

Resumen de las actividades realizadas por la Academia de Farmacia «Reino de Aragón»

11 de febrero 2015. **Sesión de Inauguración del Curso Académico 2015** en la histórica farmacia del Hospital Real N^a S^a de Gracia de Zaragoza. Se inició con la lectura de la Memoria reglamentaria por el Vicesecretario Ilmo. Sr. D. Pedro Roncalés Rabinal. A continuación se pronunció la Conferencia Inaugural a cargo del Ilmo. Sr. Dr. D. Ignacio Andrés Arribas. Académico de Número y Secretario de la Academia de Farmacia Reino de Aragón, con el título «El Museo de la Farmacia de Aragón. Lugares en el tiempo».

12 de marzo 2015. **En el Salón de Sesiones de la Real Academia de Medicina de Zaragoza tuvo lugar una Sesión Científica** a cargo del Ilmo. Sr. D. Acisclo Pérez Martos, Profesor de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Zaragoza, y Académico de número de la Academia de Farmacia «Reino de Aragón», sobre el tema: «Genética mitocondrial y respiración celular: modelos de organización». Fue presentado por el Ilmo. Sr. D. Ignacio Andrés Arribas, Académico de número.

25-27 de marzo 2015. **VI Encuentro de Academias de Farmacia Iberoamericanas**. Barcelona. El objetivo primordial de la reunión de las Academias de Farmacia Iberoamericanas fue, principalmente, dar a conocer las Academias de Farmacia

y el ámbito del medicamento a la sociedad. La Academia de Farmacia «Reino de Aragón» estuvo representada por el Vicepresidente, Santiago Andrés Magallón.

17 de junio 2015. La Academia de Farmacia «Reino de Aragón» celebró el **acto de recepción académica** de la farmacéutica y profesora titular del departamento de Farmacología y Fisiología de la Universidad de Zaragoza, M^a Luisa Bernal Ruiz. La académica de número, Ana Isabel Alcalde, fue la encargada de realizar su presentación. El acto se realizó en el salón de actos del Colegio oficial de Farmacéuticos de Zaragoza.

25 de septiembre de 2015. **Encuentro de las Academias de Farmacia de Aragón y Cataluña.** Sesión conjunta de la Academia de Farmacia «Reino de Aragón» y la Real Academia de Farmacia de Cataluña, con el patrocinio del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza, como acto conmemorativo del Día Mundial del Farmacéutico: Se expusieron las ponencias: *Las Academias de Farmacia, instituciones seculares en marcos históricos*, por el Ilmo. Sr. D. Miquel Ylla-Català Genís, de la Real Academia de Farmacia de Cataluña; *La sede de la Academia de Farmacia «Reino de Aragón»: la historia de una idea de futuro*, por el Ilmo. Sr. D. Ignacio Andrés Arribas, por la Academia de Farmacia Reino de Aragón. Edificio Paraninfo (sala Pilar Sinués).

29 de octubre de 2015. **Solemne Sesión de apertura del curso de las Academias de Aragón.** La Academia de Farmacia «Reino de Aragón» tuvo el honor de organizar la sesión inaugural del curso 2015-2016 de las Academias de Aragón, con la presencia de la Real Academia de Nobles y Bellas Artes de San Luís, Real Academia de Medicina, Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales, Academia Aragonesa de Jurisprudencia y Legislación y Academia de Farmacia «Reino de Aragón». Edificio Paraninfo de la Universidad de Zaragoza

Abrió el acto el Rector Magnífico, Excmo. Sr. D. Manuel López Pérez. A continuación la Lección inaugural fue impartida por el académico de número de la Academia de Farmacia «Reino de Aragón», Ilmo. Sr. D. Pedro Roncalés Rabinal, que versó sobre «Los Antioxidantes en la Vida, en la Farmacia y en la Tecnología de Alimentos». Respondió el Vicepresidente de la Academia de Farmacia «Reino de Aragón», Excmo. Sr. D. Santiago Andrés Magallón. En el Acto intervino el Coro Universitario «Moon River».

05 noviembre de 2015. Sesión Científica **de la Real Academia de Medicina de Zaragoza.** A cargo del Ilmo. Sr. D. Julio Montoya Villarroja, Académico de número de la Academia de Farmacia «Reino de Aragón», Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Tema: «Estudio genético-molecular de las enfermedades mitocondriales humanas». Presentado por: Ilma. Sra. D^a Caridad Sánchez Acedo, Académica Numeraria de Medicina.

30 noviembre de 2015. **Acto homenaje en recuerdo de la Académica de número Ilma. Ana Isabel Alcalde Herrero.** La Academia de Farmacia «Reino de Aragón» organizó un acto homenaje de la académica de número, recientemente fallecida, Ana Isabel Alcalde Herrero. Solemne sesión necrológica celebrada en la Sala Pilar Sinués del Paraninfo de la Universidad de Zaragoza con la intervención de:

Excmo. Sr. D. Manuel José López Pérez. Presidente de la Academia de Farmacia «Reino de Aragón».

Dr. Manuel Gascón Pérez. Decano Facultad de Veterinaria.

Dra. Divina Murillo López de Silanes. Catedrática de Universidad. Facultad de Veterinaria.

Ilmo. Sr. D. Jesús de la Osada García. Académico de Número de la Academia de Farmacia «Reino de Aragón».

Presencia del vicepresidente de nuestra Academia como invitado en los **actos de inauguración de los cursos académicos** de las Reales Academias de Farmacia Nacional, 14 enero 2016, y la de Cataluña el 18 enero 2016.

Por último, quiero mostrar mi agradecimiento a todos ustedes y el deseo de volvernos a ver en la Sesión Inaugural del año 2017.

Muchas gracias a todos por la atención que han dispensado en la lectura de esta Memoria.

Conferencia inaugural
¿Cómo consigue nuestra dieta
que seamos lo que somos?

Ilmo. Sr. Dr. D. Jesús de la Osada García

Académico de número

A. Introducción

El título de esta conferencia en nuestro tiempo es motivo de una disciplina científica en plena efervescencia, la nutrigenómica o ciencia que estudia el efecto de la dieta sobre la expresión del genoma de nuestras células. Dicho así, algo bastante sencillo. Es necesario hacer algunos cálculos para percatarse de la magnitud de dicha empresa.

Cada uno de nosotros poseemos unos 400 tipos de células diferentes que configuran nuestros órganos y sistemas [1]. Cada una de estas células expresa por término medio unos 10.000 genes solo codificantes para proteínas más miles RNA no codificantes. Si asumimos sólo los codificantes, la combinación de células y genes que pueden expresar el conjunto de células asciende a 4.000.000 que pueden variar por cada componente ambiental al que sometamos a nuestro organismo. Solo hemos considerado un elemento el organismo y ya tenemos un número respetable.

Ahora el segundo término del binomio, la dieta con sus macrocomponentes: proteínas, glúcidos y lípidos y microcomponentes: sales minerales, vitaminas... Cualquiera de estos macrogrupos se desglosa a su vez en innumerables subgrupos, a título de ejemplo, proteínas animales o vegetales y estos a su vez en los subgrupos de especies comestibles. Otro tanto ocurre con los otros grupos. Además se han añadir las posibles combinaciones de todos ellos y todas las transformaciones que pueden experimentar en todos sus procesamientos e innovaciones. En conclusión, estamos en un término con posiblemente infinitas posibilidades para ofertar a nuestros 4.000.000 de genes. Cualquier cosa que se multiplique por infinito, todos saben el resultado. Por tanto, larga vida para los nutrigenómicos y buena ganancia para las compañías que apuesten por ella.

Ante este inmenso océano, y el limitado tiempo que se ofrece para esta charla, me circunscribiré a recopilar un aspecto reciente y por tanto abordable de la nutrigenómica. La influencia de las dietas sobre los microRNAs y como estos, a su vez, controlan aspectos importantes de nuestro organismo. La búsqueda en Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) usando las palabras clave «diet» y «miRNA» generó 454 registros desde el año 2008 hasta el 31 de octubre del 2015. Esta búsqueda se acotó mediante la introducción del término «review» con lo que se obtuvieron 91 registros que fueron purgados manualmente (Figura 1) mediante análisis de sus títulos y resúmenes hasta acotar las referencias comentadas en esta revisión.

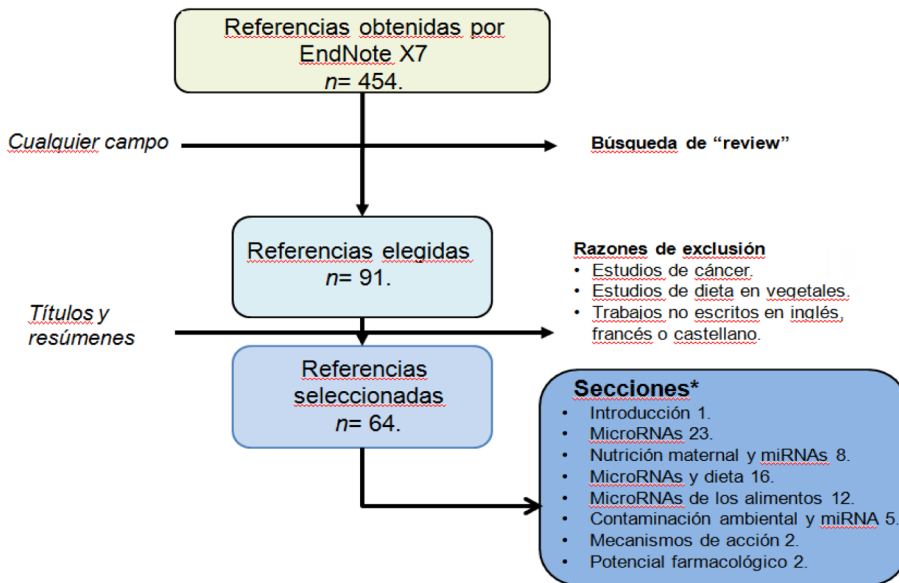


Figura 1. Estrategia de selección de los documentos para esta revisión.
EndNote X7 (Thomson Reuters: New York, NY, USA, 2015).

*Algunos documentos pueden estar citados en varios epígrafes del trabajo.

B. MicroRNAs

El proceso de generación y maduración de un micro RNA (miRNA) se refleja en la Figura 2. Los genes que codifican para los miRNAs se transcriben por la RNA polimerasa II y la III y generan miRNAs primarios o (pri)-miRNAs con un tamaño variable desde 100 pb hasta 4 kb [2]. Los miRNAs maduros en mamíferos derivan de dos sistemas de procesamiento, la RNAsa tipo III nuclear o Droscha y la citosólica o Dicer que actúa una vez que se ha exportado al citosol [3]. Una vez procesado y mediante una helicasa pierde la doble cadena y el RNA monocatenario se une al complejo riboproteico inductor del silenciamiento del RNA (RISC). De esta forma queda listo para ejercer su acción.

Los microRNAs maduros (miRNAs) son pequeños (18-25 ribonucleótidos) ácidos ribonucleicos de cadena sencilla que no codifican proteínas (Figura 3). Sin embargo, ejercen un importante papel regulador postranscriptional en la expresión génica de animales y plantas ya que controlan la degradación o la traducción del mRNA o se unen con proteínas para controlar sus funciones. Cada miRNA puede regular uno o varios transcritos y un transcrito puede ser regulado por uno o varios miRNAs. En el genoma humano pueden existir 1881 diferentes que regulan todos los mRNAs [2, 4].

En su unión al mRNA diana reconocen secuencias en la zona codificante o en la zona 3'-no codificante y se unen por complementariedad de base. La formación de este apareamiento se completa con la formación de un complejo ribopro-

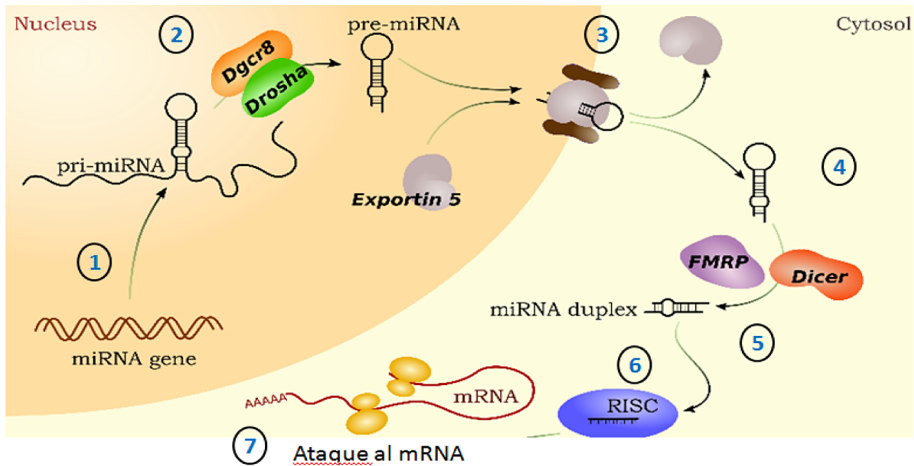


Figura 2. Producción y procesamiento de los pri-miRNAs para generar los miRNAs maduros. 1 transcripción, 2 procesamiento intranuclear, 3 salida del núcleo, 4 procesamiento citoplasmático, 5 apertura de la doble hélice, 6 unión a RISC y 7 ataque al mRNA de destino. Adaptado de [3].

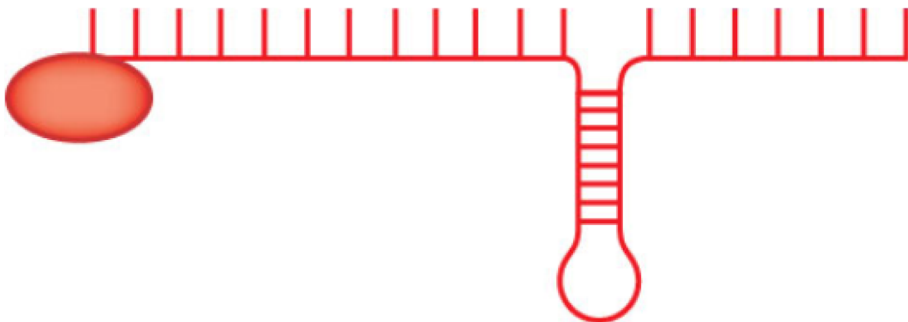


Figura 3. Estructura de un miRNA maduro unido al complejo proteico RISC. Adaptado de [5].

teico inductor del silenciamiento del RNA (RISC) que lleva a cabo las acciones de degradación del RNA o la inhibición de su traducción (Figura 4). También pueden controlar la estructura de la cromatina al reprimir la expresión de genes que codifican para la maquinaria epigenética tales como DNA metiltransferasas, histonas desacetilasas e histonas metiltransferasas. A través de estas acciones juegan un importante papel en el desarrollo embrionario, en la homeostasis tisular y en diversas enfermedades en los dos reinos [3, 6, 7].

Los microRNAs pueden circular en sangre y otros líquidos biológicos de forma estable y no incluidos en células [8-11]. Se ha descrito que van incorporados en pequeñas vesículas membranosas tales como exosomas, microvesículas y vesículas extruidas [12-16], también pueden circular unidos a proteínas que unen RNA

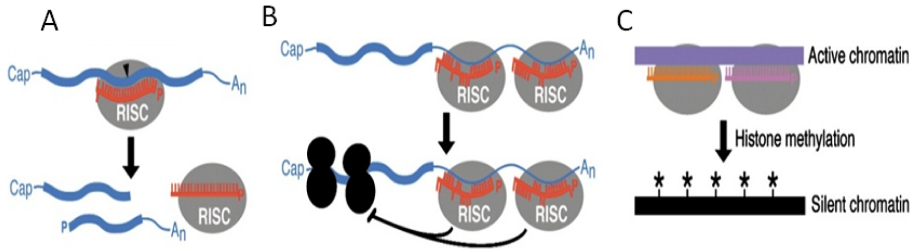


Figura 4. Modos de regulación de la expresión a través de los miRNAs. **A**, unión en la zona codificante, **B**, unión en la zona 3' no codificante y **C**, interacción con el DNA. Adaptado de [3].

como Argonata 2 [17, 18] o en las lipoproteínas de alta densidad [19] (Figura 5). Algunos de ellos de 30-33 nt están originados al truncarse el extremo 5' de un subgrupo de RNAs de transferencia lo que sugiere que se originaría a partir de estos. Cuando circulan en plasma no van vehiculizados en exosomas o microvesículas sino como partículas de 100-300 kDa y formarían un complejo macromolecular estabilizado con el ión calcio [20].

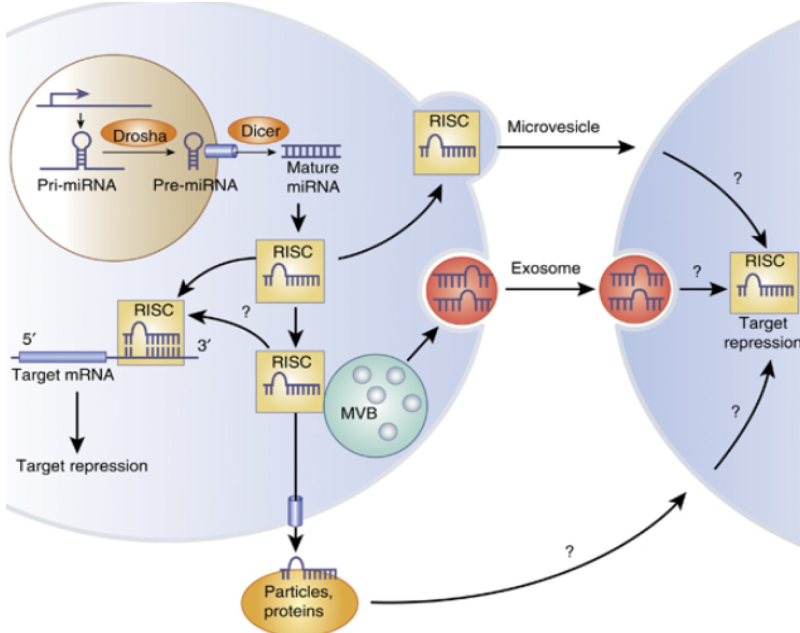


Figura 5. Transporte extracelular de miRNAs. Adaptado de [21].

De acuerdo con las hipótesis actuales, los miRNAs extracelulares pueden ser activamente secretados por las células generadoras a través de vesículas membranosas [13-16] o como productos de muerte celular al perderse la integridad celular

[17] y actuar como moléculas señalizadoras en la comunicación intercelular a la espera de conocer cuál es su destino y función.

Sus niveles en plasma, suero u otros líquidos biológicos se encontraron alterados en presencia de tumores [8-11]. Recientes evidencias indican que otras patologías también pueden mostrar cambios de los mismos. Así, los miRNA placentarios, originarios de los trofoblastos presentan una evolución que varía con el tiempo. Estos cambios durante el embarazo se reflejan en el plasma y sus alteraciones pueden aparecer en las complicaciones del embarazo como la preeclampsia, restricción del crecimiento uterino o parto prematuro. Por lo tanto pueden ser utilizados como biomarcadores sensibles y específicos para estas patologías [22]. En pacientes con esclerosis lateral amiotrófica, una enfermedad neurodegenerativa que afecta a las motoneuronas y de etiología desconocida, se encontró un aumento plasmático del microRNA hsa-miR-4649-5p y un descenso del hsa-miR-4299. Ambos microRNAs presentan capacidad de unirse a EPHA4, una proteína del sistema nervioso que se altera en esta enfermedad. Por lo que estos microRNAs pueden ser potenciales biomarcadores para el diagnóstico de la enfermedad [23]. Estos cambios en plasma, suero u otros líquidos biológicos encontrados en la patogénesis de diversas enfermedades inducen a pensar que pueden ser prometedores biomarcadores no invasivos para conocer la situación patológica del organismo en lo que se ha denominado la biopsia líquida.

La búsqueda de biomarcadores en nutrigenómica necesita que reflejen cambios sutiles homeostáticos para que sean representativos de la relación entre nutrición y salud o nutrición y enfermedad. En este sentido, los microRNAs pueden ser biomarcadores integradores. La selección de la muestra biológica que debe ser estudiada es otro aspecto que se debe considerar y en caso de estudios nutricionales ha de ser poco agresiva para el sujeto. Así plasma o suero, células mononucleares sanguíneas y heces son los candidatos posibles para evaluar el impacto de la intervención nutricional ya que son unos 300 los presentes de forma libre en el plasma/suero [24]. Además los microRNAs también permiten analizar el impacto de la microbiota intestinal [25].

Hechas estas consideraciones generales sobre los miRNAs, pasaremos a abordar su regulación por componentes nutricionales en diversos momentos de la vida de los seres vivos.

C. Nutrición maternal y miRNAs

La vida fetal de los organismos es un periodo de una enorme plasticidad y capacidad para adaptarse a diversos factores ambientales entre los que se incluyen la nutrición maternal. Esta nutrición maternal durante el embarazo y la lactación tiene importantes consecuencias en la salud de la progenie. En este sentido, estudios epidemiológicos en humanos y diversos ensayos en animales de experimentación han puesto de manifiesto que excesos o defectos de nutrición en estos periodos condicionan el desarrollo de los nuevos individuos y su susceptibilidad para padecer enfermedades metabólicas. Es a través de modificaciones epigenéticas del

desarrollo embrionario y en concreto de las células germinales o pluripotenciales las responsables de las consecuencias en la vida posterior del individuo. Se han propuesto diferentes mecanismos epigenéticos tales como la metilación del DNA, o la modificación de histonas a través de los cuales se puede controlar la adecuada expresión de la información genética codificada en el DNA [26]. Dada la enorme trascendencia de esta temprana nutrición en la susceptibilidad a las enfermedades en la vida adulta y la implicación de cambios epigenéticos, cada vez surge más interés en conocerlos y modularlos.

Por ello la búsqueda de los componentes dietéticos que modulan el epigenoma tales como donadores de grupos metilo tales como folato o colina u otros compuestos bioactivos como polifenoles atraen nuestra atención y son motivo de intensa investigación para establecer sus mecanismos de acción y su seguridad de administración con las vistas puestas en un hipotético futuro donde una temprana nutrición precoz pudiera ser crucial en la prevención de ciertas enfermedades. Ya que a diferencia del genoma, el epigenoma se puede modificar y por tanto marcadores de riesgo epigenético se pueden revertir.

¿Existe un papel de los microRNA en la programación fetal y éste es modificable por intervenciones dietéticas?

Varios estudios *in vivo* han observado el efecto de la dieta materna en la modulación de los mismos y su potencial papel en el desarrollo de enfermedades metabólicas y cardiovasculares en la vida adulta [27].

Dos aspectos de la dieta materna han sido particularmente estudiados, el alto contenido de grasa y el bajo aporte proteico con respecto a los miRNAs y metabolismo lipídico en la progenie. En ratones, Zhang y cols [28] compararon el efecto del aporte materno de dietas con un 23% de grasa en comparación con dietas de un 10% de dicho componente tanto en el periodo de precepción como en el embarazo y la lactancia sobre la expresión de miRNAs en las crías de 14 semanas de edad. Las crías de madres alimentadas con dieta grasa pesaban más y en su hígado se observó un descenso del contenido de lípidos motivado por la estimulación de la expresión de genes implicados en el catabolismo de lípidos tales como PPAR α y CPT1a. Estos genes se suprimen por el miR-122 que se encuentra disminuido en estas condiciones. En el estudio llevado a cabo por Benatti y cols con similar diseño experimental corroboraron la disminución del miR-122 pero no los cambios de los enzimas de beta oxidación, ni la disminución del contenido de triglicéridos. En cambio ellos encontraron un aumento del miR-370 que también controla la beta oxidación y que antagoniza al miR-122 [29]. Estos dos microRNAs pueden jugar un papel crítico en los cambios en la oxidación lipídica hepática presentes en la descendencia procedente de madres que ingieren un exceso de grasa en la comida.

El contenido proteico de la dieta materna en el embarazo sobre el metabolismo del tejido adiposo y los miRNAs de este órgano en los cerditos de 35 días de edad se llevó a cabo por Pan y cols. La dieta de bajo contenido proteico disminuyó el peso de los animales y su depósito grasa subcutáneo e incrementó los niveles del miR-130b que suprime al PPAR γ y del miR-374b, que lo hace para la proteína de unión al dominio regulador CCAAT (C/EBP- β). El descenso de estos factores de

transcripción proadipogénicos puede motivar la menor adiposidad de los animales ejercida por los miRNAs [30]. Este aspecto dietético está igualmente modificando dos microRNAs que controlan las características del depósito graso subcutáneo.

La baja disponibilidad proteica en la dieta materna también altera la producción de insulina y el metabolismo glucídico en la progenie, ya que disminuye el tamaño y número de islotes de Langerhans y produce agotamiento prematuro de la función secretora de las células beta. Estas alteraciones conducen a la disfuncionalidad de las mismas que son la base de la aparición de la diabetes tipo 2 del adulto. El estrés nutricional se asocia a cambios epigénéticos en la metilación del DNA y modificación de las histonas de los genes implicados en el desarrollo pancreático y en su función [31]. Recientemente en este campo se ha visto la implicación de los miRNAs particularmente tras la restricción proteica de la dieta de las madres. Situación que aumentó los miR-199a-3p, miR-342 y miR-7a en la descendencia y un descenso del complejo diana de la rapamicina (mTOR) que interviene en la reprogramación de la célula beta. El miR-199a3p se une al extremo 3' del RNA de mTOR e impide su traducción lo que conlleva disminución de células beta y de su funcionalidad [32]. En otro estudio llevado a cabo en ratas, se vio que la restricción proteica durante el embarazo originaba un aumento del miR-375 que interacciona con el extremo 3' del RNA de la proteína quinasa 1 dependiente de trifosfoinosítidos (PDK1) e disminuye su traducción (Figura 6). La pérdida de esta proteína disminuye la respuesta a la glucosa [33].

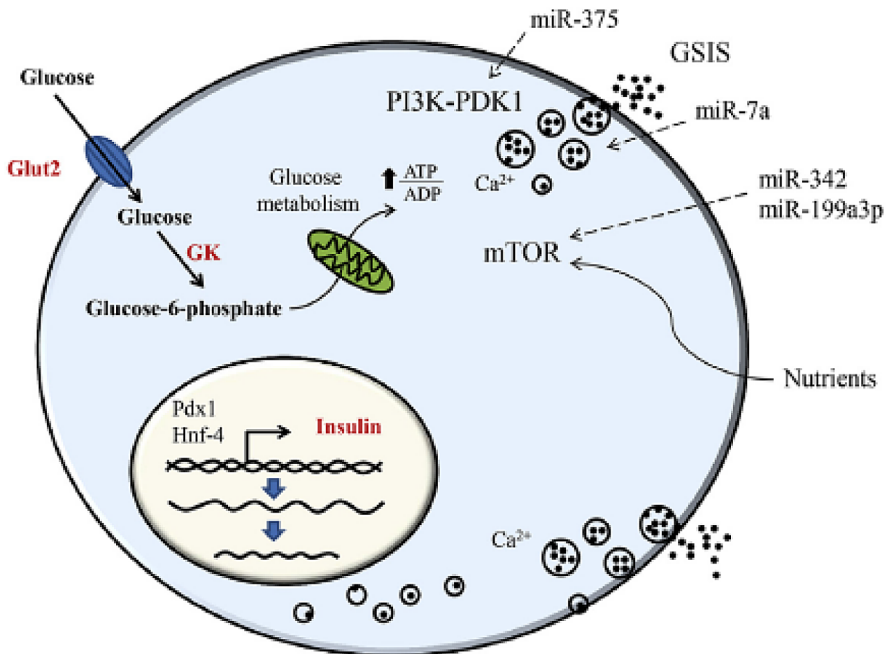


Figura 6. Modos de acción de los miRNAs en la célula beta. Adaptado de [31].

Estas evidencias apuntan que los microRNA pueden ser intermediarios importantes en la programación intrauterina del páncreas endocrino en modelos animales y tal vez en humanos y que dichas acciones se controlan por la dieta.

D. MicroRNAs y dieta en organismos adultos

Se han efectuado estudios en diversos órganos y a título de ejemplo se presentan los realizados en órganos tales como el hígado, páncreas, células sanguíneas y placas epifisarias.

1. Hígado

Diversos factores dietéticos modifican la expresión de los microRNAs tal como han evidenciado las técnicas de secuenciación de RNA. Por ejemplo, en hígado de babuinos se caracterizaron 517 miRNAs: 490 idénticos a los humanos y 27 nuevos. Dieciocho miRNAs se indujeron al administrar una dieta rica en colesterol y grasa en los animales que presentaron niveles elevados de colesterol en las lipoproteínas de baja densidad, en cambio sólo se alteraron diez en animales no respondedores. Por lo tanto, la respuesta a este tipo de dietas conlleva la expresión selectiva de ciertos tipos de miRNA [34]. En otro estudio llevado a cabo en hígado de ratón, se caracterizaron 150 y concretamente los niveles de miR-27b se indujeron notablemente en respuesta a una dieta rica en grasa (42% de las calorías). Este miRNA controla el metabolismo lipídico al modular a genes como el de *Angptl3* implicado en el metabolismo de TG [35].

La dieta mediterránea, en su totalidad o algunos de sus componentes, modula los múltiples procesos que conectan la carcinogénesis y la respuesta inflamatoria tales como la producción de radicales, activación del NF-kappaB, la expresión de mediadores inflamatorios y la ruta de los eicosanoides. La dieta mediterránea también modula la microbiota, la homeostasis y modulación epigenética a través de la expresión de ciertos microRNA tales como miR-19b, -26b, -27b, -200c y -203 [36].

Administración de dietas como la Lieber-DeCarli, rica en etanol, o deficientes en metionina y colina modifican la expresión de miRNA. De los 5 genes que fueron comunes para la respuesta a ambas dietas, los comportamientos fueron diferentes. Así, mientras que miR-705 y miR-1224 aumentaron, miR-182, miR-183 y miR-199a-3p mostraron una respuesta diferencial ya que disminuyeron en la Lieber-DeCarli y aumentaron en la deficiente en metionina y colina. Estos resultados indican que estos miRNA pueden discriminar el origen alcohólico y no alcohólico de la esteatosis hepática [37]. Cuando se administraron dietas más agresivas con restricciones de aminoácidos y colina que indujeron hepatocarcinoma, los miRNA oncogénicos, miR-155, miR-221/222 y miR-21, se indujeron y el miR-122 específico hepático disminuyó. Proteínas dianas de miR-21 como el homólogo hepático de tensina y fosfatasa (PTEN) y de miR-155 como la proteína beta de unión al dominio estimulador CCAAT (CEBP-beta) redujeron su expresión [38]. Estos resultados nos ilustran el importante papel de los miRNA en la patología hepática y su regulación a través de la dieta.

Componentes específicos como el galato de epicatequina, un polifenol que inhibe el cáncer a través de su poder antioxidante y su unión a proteínas específicas, también se ha estudiado su papel sobre los miRNAs. Incubación de la línea celular HEpG2 con este compuesto modificó la expresión de varios miRNAs. Uno de ellos fue el miR-16, conocido por modular la proteína antiapoptótica, Bcl-2. Por este mecanismo, el galato de epicatequina podría ejercer su efecto apoptótico en estas células. De hecho el empleo de un inhibidor del miR-16 eliminó la disminución del Bcl-2 y la generación de apoptosis. Por lo tanto este miRNA juega un papel en la actividad biológica de este compuesto [39]. Sin embargo las dosis empleadas en tales estudios fueron muy elevadas. Con dosis más moderadas y mediante el empleo de tumores de pulmón inducidos en ratones A/J con carcinógenos del tabaco, se han observado cambios en 21 microRNAs que tienen su potencial diana en 26 genes codificantes para AKT, MAP quinasa y regulación del ciclo celular. Por lo que la acción antitumoral *in vivo* de este compuesto también esta mediada por miRNAs [40].

Otro compuesto como el furano, producido en alimentos calentados, también indujo cambios en la expresión de miRNA en hígado de rata [41].

2. Células β del páncreas

Ausencia o pérdida de función de las células beta pancreáticas conducen a insuficiente liberación de la insulina para cubrir las necesidades y el desarrollo de diabetes. Muchos componentes dietéticos influyen la actividad de la célula beta, su ingesta inadecuada, por problemas de absorción y /o utilización puede tener consecuencias negativas. Los mecanismos implicados en esta disfunción de la célula beta originada por los nutrientes pueden ser transcripcionales, postranscripcionales y relativos a la traducción de los genes implicados en la biosíntesis y secreción de la insulina, metabolismo de lípidos y glúcidos, diferenciación, proliferación y supervivencia celulares [42]. En todos estos procesos participan RNA no codificantes que se alteran por cambios en la dieta *in vivo*. En ratas Goto-Kakizaki, los miRNAs: miR-130a, miR-132, miR-212 and miR-335 se modificaron por la administración de glucosa [43]. En ratones alimentados con dieta grasa también se modificaron sus miRNAs. En concreto, se incrementó el miR-132 y disminuyeron miR-184 y miR-338-3p. Estos cambios podrían ser favorables para la célula β ya que favorecen su proliferación y supervivencia. Pero cambios en otros miRNAs como miR-203, miR-210 y miR-383 poseen el efecto contrario [44, 45]. Se desconoce el papel que puede jugar el equilibrio de miRNAs en estas dietas pero está claro que sufren cambios que han de ser clarificados. La comprensión de estos mecanismos que influyen la célula beta será crítica para mejorar el tratamiento de la diabetes.

3. MicroRNAs plasmáticos

Estos reflejan la adaptación biológica a las condiciones ambientales. Por ello sus niveles plasmáticos se consideran importantes parámetros para evaluar las respuestas a dietas, ejercicio o pérdida de peso. Se han efectuado doce estudios en

humanos para evaluar la influencia del ejercicio sobre los miRNA plasmáticos. A pesar de las diferencias entre estudios en el tipo e intensidad del ejercicio y las metodologías para evaluar los microRNAs, se ha encontrado una asociación del ejercicio con los niveles de estos compuestos [24]. En cuanto a las dietas no existe tal patrón, posiblemente debido a que sólo se han efectuado dos estudios en humanos, uno con monocitos y otro con plasma. Los mir-223, -224, 376b, 935 y 4772 de los monocitos cambiaron su expresión con una leve restricción calórica [46]. Indudablemente se han de confirmar estos estudios en diversas poblaciones y comprobar su evolución en estudios prospectivos.

La restricción calórica también controla los niveles de los microRNAs procedentes del extremo 5' de un subgrupo de RNAs de transferencia en ratones tanto jóvenes como adultos. Las dianas celulares de este subgrupo de 5'-tRNA no se conocen pero juegan un papel en supresión del inicio de la traducción proteica. Son por tanto unos mensajeros celulares a la espera de conocer cuál es su destino y función [20].

4. Placas de crecimiento epifisarias

La malnutrición infantil es la principal causa de retraso de crecimiento en los niños. Sin embargo, se ha observado que cuando se restaura una correcta alimentación en niños desnutridos, en la mayoría de los casos estos pueden rápidamente recuperar su hipotética trayectoria de crecimiento. La búsqueda de los mecanismos complejos que subyacen en dicho proceso ha llevado a identificar agentes tales como la insulina, la hormona de crecimiento, la proteína análoga a la insulina 1 (IGF-1), la vitamina D y el factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF21) [47]. Parece que también existen procesos celulares de autofagia y de control de la expresión génica por miRNAs. En las placas de crecimiento de las epífisis se expresan los miRNA, miR-140 y miR-22, que responden a cambios nutricionales. Estos ejercen un papel represor de la SIRT1. En concreto, la restricción calórica en ratas disminuyó los niveles de miR-140 y de miR-22 y así se eliminó su represión sobre la SIRT1 [48]. La expresión de ésta bloquearía la biosíntesis proteica y la proliferación celular de las placas de crecimiento de las epífisis, lo cual podría explicar el retraso del crecimiento tras la malnutrición (Figura 7).

Todos estos resultados ponen de manifiesto el papel de los miRNA en respuesta a los componentes de la dieta y como a través de ellos se controlan importantes procesos en los diversos órganos estudiados tales como el metabolismo lipídico hepático, la secreción de la insulina pancreática y el crecimiento óseo.

E. MicroRNAs de los alimentos

1. Alimentos vegetales

Las plantas poseen importantes cantidades de miRNAs originados por diversas rutas y poseen un papel regulador en las mismas. Muchos de estos RNAs presentes en maíz, arroz y soja son muy similares a los existentes en animales. Tradicio-

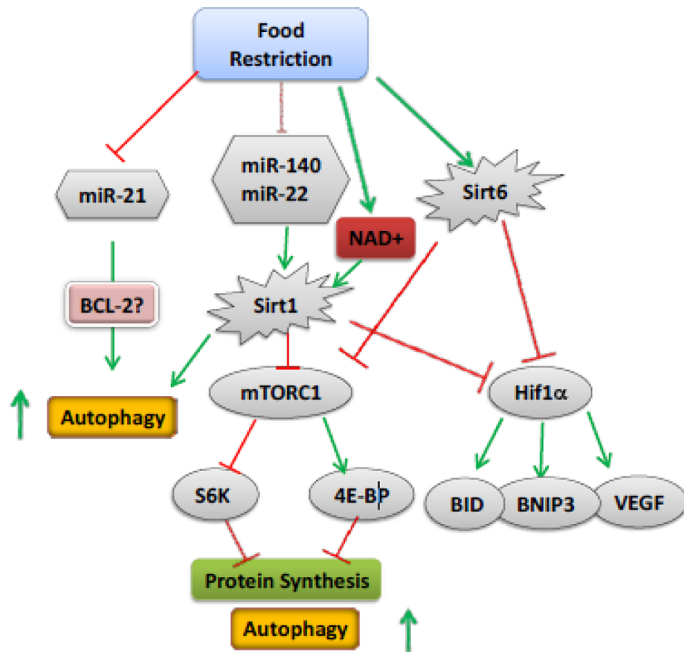


Figura 7. Modos de acción de los miRNAs en las células de las placas de las epífisis tras la restricción calórica. Adaptado de [47].

nalmente se ha postulado que este RNA exógeno sería degradado en el tránsito intestinal y por lo tanto no tendría consecuencias en el organismo que los consumiese. Mediante una aproximación de secuenciación global de todos los miRNA presentes en el plasma humano, se descubrió la existencia de miRNA procedentes de plantas y particularmente el MIR168a [49]. Este trabajo ha desafiado el paradigma al mostrar la existencia de miRNAs de origen vegetal en plasma de animales que consumen dichas plantas, esto sugeriría su potencial absorción y un papel funcional de los mismos en el nuevo organismo en un intercambio inter-reinos a través de la alimentación.

A partir de este hallazgo se han realizado posteriores estudios con discrepantes resultados. Mientras que unos confirman tal hallazgo [50], otros no [51-53]. En el caso de Witwer y cols, los miRNA determinados fueron MIR160, MIR156, MIR166, MIR167, MIR168 y MIR172 y no encontraron cambios en macacos [51]. Snow y cols analizaron MIR156a, MIR159a and MIR169a y no encontraron cambios en sujetos sanos y ratones que consumieron frutas ricas en dichos miRNAs [52]. Estas discrepancias plantean varias dudas: la falta de técnicas estandarizadas fiables en este momento tanto en la extracción como en el uso de controles. Algo tanto más crítico cuanto que la concentración de estos es francamente baja. Además, la búsqueda basada en la mayor abundancia en una planta puede no ser una estrategia adecuada ya que estos pueden no ser absorbidos. De hecho, la absorción de los

miRNA puede ser selectiva y por tanto si se selecciona uno que no se absorba, no se pueden obtener cambios. Parece que existe una absorción selectiva de miRNA de plantas en la mucosa gastrointestinal, donde se empaquetan en microvesículas para su liberación al torrente circulatorio [49]. Esto explica que de los miles de miRNA de plantas existentes, solo una docena fuesen detectados en plasma en el trabajo original de Zhang y cols [49].

Recientemente se ha demostrado que la sandía también posee miRNAs que se absorben tal como se demostró en un estudio en el que se determinaron las concentraciones sanguíneas a diversos tiempos de 16 de ellos en sujetos que tomaron zumo de sandía. De seis de ellos se observó que su concentración plasmática aumentaba con la administración de dicho zumo [54], sin embargo los comportamientos resultaron muy variables tal como se observa en la figura 8. En tanto que los niveles de MIR894 aumentaban progresivamente a lo largo del tiempo, los de MIR156 y MIR528 alcanzaron un máximo a las tres horas para luego descender a los niveles basales. En este estudio no se estudió la diana molecular de estos RNAs.

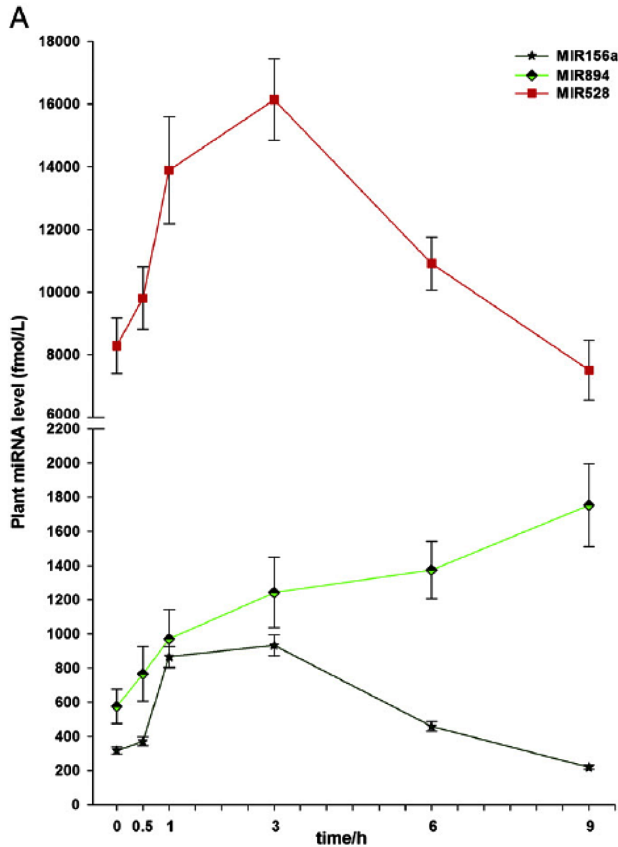


Figura 8. Niveles plasmáticos de miRNAs procedentes del zumo de sandía. Adaptado de [54].

Todos estos resultados indican que el proceso parece ser limitado a algunos tipos como el miR168 y de este el presente en monocotiledóneas es particularmente fácil de transmitirse a animales e insectos [55] o los MIR894, MIR156 y MIR528 de la sandía. Estos miRNA saltan entre los reinos a través de la dieta y son capaces de ejercer su acción sin fronteras. De esta forma plantean una nueva perspectiva tanto de regulación similar de plantas y humanos y de injerencia de unos en otros. Surge el concepto de la dieta como transportadora de moléculas con acción terapéutica donde los miRNAs son los agentes responsables del impacto médico y de ofrecer una perspectiva diferente de relación de ambos reinos [56].

2. Leche

La leche posee un amplio repertorio de miRNAs. En la leche humana se han encontrado 35 tipos de miRNAs diferentes análogos a plantas en tanto que en la de las cerdas se encontraron únicamente 17. Para el caso humano, los niveles más abundantes correspondieron a ath-miR166a, pab-miR951, ptc-miR472a y bdi-miR168, en tanto que para el porcino fueron zma-miR168a, zma-miR156a and ath-miR166a [57]. La predicción bioinformática sugiere que las secuencias son parecidas a los miRNA de plantas por lo que podrían venir de ellas. Además muchos de estos miRNAs podrían interaccionar con RNA codificantes para factores de transcripción, receptores, transportadores y proteínas con función inmunológica por lo tanto con potencial función en el ser humano [57].

En la leche, los miRNA van encapsulados en exosomas para así no ser degradados y para facilitar su captación por endocitosis. Son muchos los miRNA bovinos que complementan secuencias de genes humanos. ¿Hasta qué punto se absorben desde la leche y una vez dentro del organismo regulan la expresión de nuestros genes o interfieren con nuestros propios miRNAs? Estudios de consumo de diferentes cantidades de leche en un rango de 0,25 hasta 1 L de leche se han llevado a cabo en humanos, junto con leche desprovista de miRNAs. Tras la administración de la leche, cantidades importantes de miR-29b and miR-200c aparecieron en el plasma de los sujetos que los consumieron. Además, la expresión de runt-related transcription factor 2 (RUNX2), una diana de miR-29b, aumentó en las células mononucleares sanguíneas tras el consumo de leche. En cultivos de la línea celular embrionaria de riñón humano 293, los exosomas de la leche reprodujeron el efecto observado al ingerir la leche. Si a ratones se les administraba leche desprovista del miRNA, miR-29b, los niveles sanguíneos de éste disminuyeron notablemente y no fueron compensados por el endógeno [58]. Esto indica que los miRNA de la leche se absorben y son compuestos bioactivos que regulan la expresión de genes en humanos y otros animales.

F. Contaminación ambiental y miRNA

Dado que los miRNA aparecen asociados a enfermedades como cáncer y enfermedades cardiovasculares y puesto que estas están ligadas a exposiciones a agentes biológicos, químicos y físicos, es razonable asumir que existan cambios

en los miRNA en la respuesta a agentes tóxicos [59]. Además, el patrón único de microRNAs en diferentes tipos y a diferentes estadios del cáncer puede ayudar a que estas moléculas sean importantes biomarcadores. En el caso del cáncer hepático, su aparición está ligada a infecciones por virus de la hepatitis B o C, consumo de alcohol, la ingestión de aflatoxina o la exposición a arsénico. Por las características de pseudonutrición, hemos de comentar los hallazgos del alcohol. El miR-126 disminuyó en cáncer hepático asociado a consumo de alcohol en humanos [60]. Tal como hemos mostrado anteriormente, el consumo de alcohol en ratones disminuyó las expresiones de miR-182, miR-183 y miR-199a-3p y puede discriminar el origen alcohólico y no alcohólico de la esteatosis hepática [37].

También el arsénico, un contaminante importante de las aguas en ciertas regiones del planeta y que se asocia con hepatoma, se ha visto que induce la expresión de miRNAs tales como miR-22, miR-34a, miR-221 and miR-222. Precisamente miR-34a controla la proliferación celular [60].

La prevalencia de las enfermedades cardiovasculares ha sido asociada a la exposición a partículas contaminantes. Las células pulmonares expuestas a estas partículas contaminantes pueden liberar microvesículas con miRNA que pueden cambiar la expresión génica en otros tejidos. Para probar esta hipótesis, microvesículas plasmáticas de trabajadores de la industria del acero se obtuvieron antes y después de la exposición a las partículas contaminantes del sitio de trabajo y se analizaron sus miRNA. miR-128 y miR-302c aumentaron de una forma importante después de tres días de exposición a la contaminación ambiental. Ambos miRNAs interaccionan con genes implicados en enfermedades cardiovasculares, hipertrofia cardíaca y fallo cardíaco. Los cambios de miR-128 se reprodujeron in vitro al incubar células A549 con partículas contaminantes recogidas en el sitio de trabajo. Con estos resultados se propone un nuevo mecanismo de acción de las partículas contaminantes a través de miRNAs [61].

El estudio de los microRNA y sus alteraciones en relación a diversos contaminantes ambientales y el desarrollo de diversas patologías puede facilitar un mejor conocimiento de los mecanismos así como un nuevo desarrollo de indicadores de exposición a tóxicos o de carcinogenicidad.

G. Mecanismos de acción

Cientos de miRNAs se han identificado en humanos y están implicados en muchos procesos biológicos. A título de ejemplo, se recogen aquellos relacionados con el transporte plasmático del colesterol, metabolismo y mantenimiento de la homeostasis del colesterol. Por su pequeño tamaño y la capacidad de regular la expresión génica, los miRNAs son dianas atractivas para el control de las dislipemias. Tal como se refleja en la Tabla 1, en la regulación del gen ABCA1 pueden participar diversos miRNA con acciones opuestas. La compleja interacción entre miRNAs, factores de transcripción y expresión génica sugiere que pueden poseer importantes efectos secundarios a consecuencia de su sobreexpresión o inhibición [62]. Estas acciones secundarias suscitan dudas sobre si su uso puede ser de utilidad en este campo.

miRNA	Proteína diana	Acción
miR-19b	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-26	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-27a/b	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-33a/b	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-33-3p	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-128	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-144-5p/miR-144-3p	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-145	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-223	ABCA1	Aumento del ABCA1
miR-302a	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-613	ABCA1	Supresión del ABCA1
miR-758	ABCA1	Supresión del ABCA1

Tabla 1. miRNAs implicados en la regulación del transportador dependiente de ATP tipo A1, ABCA1 implicado en la secreción de colesterol a las lipoproteínas de alta densidad. Adaptado de [62].

Tal como se ha comentado en la sección de microRNAs de los alimentos, los microRNAs de plantas están presentes en el suero y los tejidos de animales y se adquirirían a través de la alimentación. En concreto, el MIR168a es abundante en el arroz y está presente en el suero de la población china. Este microRNA se une al RNA mensajero que codifica para proteína adaptadora 1 del receptor de lipoproteínas de baja densidad e impide su traducción en hígado (LDLRAP1). Al disminuir esta proteína disminuyen los niveles del receptor de lipoproteínas de baja densidad y disminuye la captación de las LDL plasmáticas. El miRNA168a induce la acumulación de las lipoproteínas de baja densidad, las que más colesterol transportan e implicadas en el desarrollo de aterosclerosis (Figura 9). Su aumento proveniente de origen vegetal puede tener consecuencias negativas para la salud. De esta forma un microRNA de plantas controla la función de un gen de mamíferos [49].

H. Potencial farmacológico

La emergencia de la epidemia de obesidad ha aumentado la prevalencia de la resistencia a la insulina y del síndrome metabólico con el consecuente desarrollo de hígado graso no alcohólico, diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. Las intervenciones farmacológicas combinadas con la dieta y el ejercicio están siendo poco eficaces para el control del peso. Posiblemente debido a un conocimiento incompleto de los mecanismos reguladores y rutas metabólicas que contribuyen a las alteraciones metabólicas sistémicas en situaciones de alteración

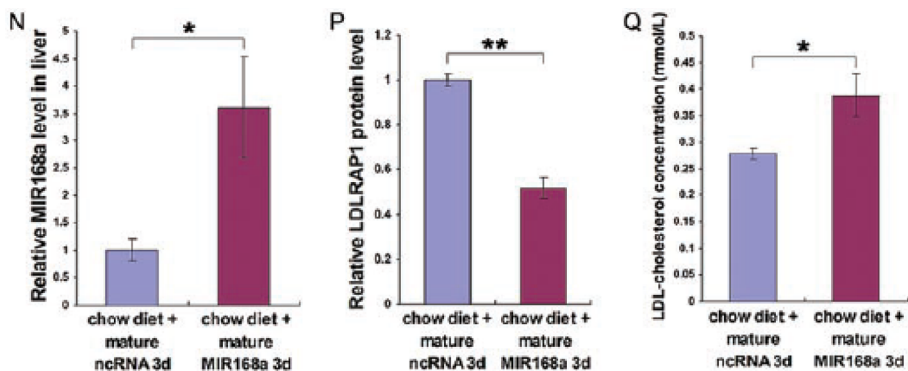


Figura 9. Niveles hepáticos de miRNAs, de la proteína LDLRAP1 y concentración sanguínea de colesterol en las LDL en animales alimentados con el MIR168a 3d. Adaptado de [49].

de la homeostasis energética. Los miRNAs participan en los cambios metabólicos implicados en la obesidad, por ello pueden ser potenciales candidatos a dianas terapéuticas [63].

La modulación terapéutica de los microRNAs mediante anti-miRNA oligonucleótidos o el propio uso de miRNA pueden ser nuevas estrategias terapéuticas para controlar los efectos tardíos de las agresiones nutricionales en momentos críticos del desarrollo de los organismos.

Además la posibilidad de los microRNAs de la dieta puedan incorporarse a los organismos y su papel en el control metabólico ofrece una interesante posibilidad digna de ser explorada [64]. Sobre todo los miRNAs de la leche materna dado el papel que juega ésta en la protección del neonato.

I. Conclusiones

Los miRNAs son un amplio conjunto de moléculas reguladoras capaces de controlar la expresión de genes codificantes para las proteínas.

La regulación de la expresión de estos miRNAs puede tener lugar por la alimentación materna tanto en el embarazo como en la lactancia y sus cambios a largo plazo se desconocen.

La dieta de los adultos y los contaminantes ambientales también regulan la expresión de los mismos.

Ciertos alimentos pueden poseer miRNAs que pueden ser absorbidos y ejercen acciones biológicas que deben ser tenidas en cuenta. Por lo que la diversificación de la dieta es aún más recomendable.

Los miRNAs ejercen un fino ajuste metabólico en ciertas proteínas que permiten más versatilidad metabólica para un ambiente cambiante.

La diversidad de los miRNAs y su especificidad tisular permite que puedan ser unos interesantes biomarcadores diagnósticos, pronósticos y de seguimiento de las diferentes patologías en diversos líquidos biológicos o lo que se denomina la biopsia líquida.

Su utilización farmacológica es posible pero deberá ajustar muy exquisitamente para evitar efectos secundarios.

En corolario, aunque la regulación dietética de los miRNAs es un campo muy joven ya promete ejercer un importante papel en el control de cómo se van a mostrar nuestros genes codificantes y en definitiva para ser como somos.

Muchas gracias por su atención.

J. Agradecimientos

El trabajo de investigación del grupo del autor está financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad – Fondo Europeo de Desarrollo Regional (2013-41651R), el Fondo Social Europeo – Gobierno de Aragón (B-69) y el CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN) como iniciativa del Instituto de Salud Carlos SCIII. El autor es miembro del Instituto Universitario de Investigación Agroalimentario de Aragón (IA2) y del Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Uhlen M, Fagerberg L, Hallstrom BM, Lindskog C, Oksvold P, Mardinoglu A, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 2015;347:1260419.
- [2] Saini HK, Griffiths-Jones S, Enright AJ. Genomic analysis of human microRNA transcripts. *Proc Nat Acad Sci*. 2007;104:17719-24.
- [3] Bartel DP. MicroRNAs. *Cell*. 2004;116:281-97.
- [4] Griffiths-Jones S. miRBase. 2015. http://www.mirbase.org/cgi-bin/mirna_summary.pl?org=hsa. Acceso 2 de noviembre de 2015.
- [5] Rossi JJ. Stopping RNA interference at the seed. *Nat Genet*. 2011;43:288-9.
- [6] Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004;431:350-5.
- [7] He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet*. 2004;5:522-31.
- [8] Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res*. 2008;18:997-1006.
- [9] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanian EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Nat Acad Sci*. 2008;105:10513-8.
- [10] Park NJ, Zhou H, Elashoff D, Henson BS, Kastratovic DA, Abemayor E, et al. Salivary microRNA: Discovery, Characterization, and Clinical Utility for Oral Cancer Detection. *Clinical Cancer Research*. 2009;15:5473-7.
- [11] Hanke M, Hoefig K, Merz H, Feller AC, Kausch I, Jocham D, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. 2010;28:655-61.
- [12] Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*. 2007;9:654-9.

- [13] Zhang Y, Liu D, Chen X, Li J, Li L, Bian Z, et al. Secreted Monocytic miR-150 Enhances Targeted Endothelial Cell Migration. *Molecular Cell*. 2010;39:133-44.
- [14] Skog J, Wurdinger T, van Rijn S, Meijer DH, Gainche L, Curry WT, et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat Cell Biol*. 2008;10:1470-6.
- [15] Mittelbrunn M, Gutierrez-Vazquez C, Villarroya-Beltri C, Gonzalez S, Sanchez-Cabo F, Gonzalez MA, et al. Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells. *Nat Commun*. 2011;2:282.
- [16] Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Takeshita F, Matsuki Y, Ochiya T. Secretory Mechanisms and Intercellular Transfer of MicroRNAs in Living Cells. *J Biol Chem*. 2010;285:17442-52.
- [17] Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Research*. 2011;39:7223-33.
- [18] Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Nat Acad Sci*. 2011;108:5003-8.
- [19] Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM, Shamburek RD, Remaley AT. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat Cell Biol*. 2011;13:423-33.
- [20] Dhahbi JM, Spindler SR, Atamna H, Yamakawa A, Boffelli D, Mote P, et al. 5' tRNA halves are present as abundant complexes in serum, concentrated in blood cells, and modulated by aging and calorie restriction. *BMC Genomics*. 2013;14:298.
- [21] Bitzer M, Ben-Dov IZ, Thum T. Microparticles and microRNAs of endothelial progenitor cells ameliorate acute kidney injury. *Kidney Int*. 2012;82:375-7.
- [22] Morales-Prieto DM, Ospina-Prieto S, Schmidt A, Chaiwangyen W, Markert UR. Elsevier Trophoblast Research Award Lecture: origin, evolution and future of placenta miRNAs. *Placenta*. 2014;35 Suppl:S39-45.
- [23] Takahashi I, Hama Y, Matsushima M, Hirotsu M, Kano T, Hohzen H, et al. Identification of plasma microRNAs as a biomarker of sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Mol Brain*. 2015;8:67.
- [24] Flowers E, Won GY, Fukuoka Y. MicroRNAs associated with exercise and diet: a systematic review. *Physiol Genomics*. 2015;47:1-11.
- [25] Rome S. Use of miRNAs in biofluids as biomarkers in dietary and lifestyle intervention studies. *Genes Nutr*. 2015;10:483.
- [26] Chango A, Pogribny IP. Considering maternal dietary modulators for epigenetic regulation and programming of the fetal epigenome. *Nutrients*. 2015;7:2748-70.

- [27] Casas-Agustench P, Iglesias-Gutierrez E, Davalos A. Mother's nutritional miRNA legacy: Nutrition during pregnancy and its possible implications to develop cardiometabolic disease in later life. *Pharmacol Res.* 2015;100:322-34.
- [28] Zhang J, Zhang F, Didelot X, Bruce KD, Cagampang FR, Vatish M, et al. Maternal high fat diet during pregnancy and lactation alters hepatic expression of insulin like growth factor-2 and key microRNAs in the adult offspring. *BMC Genomics.* 2009;10:478.
- [29] Benatti RO, Melo AM, Borges FO, Ignacio-Souza LM, Simino LAP, Milanski M, et al. Maternal high-fat diet consumption modulates hepatic lipid metabolism and microRNA-122 (miR-122) and microRNA-370 (miR-370) expression in offspring. *British Journal of Nutrition.* 2013;111:2112-22.
- [30] Pan S, Zheng Y, Zhao R, Yang X. MicroRNA-130b and microRNA-374b mediate the effect of maternal dietary protein on offspring lipid metabolism in Meishan pigs. *Br J Nutr.* 2013;109:1731-8.
- [31] Sosa-Larios TC, Cerbon MA, Morimoto S. Epigenetic alterations caused by nutritional stress during fetal programming of the endocrine pancreas. *Arch Med Res.* 2015;46:93-100.
- [32] Alejandro EU, Gregg B, Wallen T, Kumusoglu D, Meister D, Chen A, et al. Maternal diet-induced microRNAs and mTOR underlie beta cell dysfunction in offspring. *The Journal of Clinical Investigation.* 2014;124:4395-410.
- [33] Dumortier O, Hinault C, Gautier N, Patouraux Sp, Casamento V, Van Obberghen E. Maternal Protein Restriction Leads to Pancreatic Failure in Offspring: Role of Misexpressed MicroRNA-375. *Diabetes.* 2014;63:3416-27.
- [34] Karere GM, Glenn JP, VandeBerg JL, Cox LA. Differential microRNA response to a high-cholesterol, high-fat diet in livers of low and high LDL-C baboons. *BMC Genomics.* 2012;13:320.
- [35] Vickers KC, Shoucri BM, Levin MG, Wu H, Pearson DS, Osei-Hwedieh D, et al. MicroRNA-27b is a regulatory hub in lipid metabolism and is altered in dyslipidemia. *Hepatology.* 2013;57:533-42.
- [36] Ostan R, Lanzarini C, Pini E, Scurti M, Vianello D, Bertarelli C, et al. Inflammation and cancer: a challenge for the Mediterranean diet. *Nutrients.* 2015;7:2589-621.
- [37] Dolganiuc A, Petrasek J, Kodys K, Catalano D, Mandrekar P, Velayudham A, et al. MicroRNA expression profile in Lieber-DeCarli diet-induced alcoholic and methionine choline deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis models in mice. *Alcohol Clin Exp Res.* 2009;33:1704-10.
- [38] Wang B, Majumder S, Nuovo G, Kutay H, Volinia S, Patel T, et al. Role of microRNA-155 at early stages of hepatocarcinogenesis induced by choline-deficient and amino acid-defined diet in C57BL/6 mice. *Hepatology.* 2009;50:1152-61.

- [39] Tsang WP, Kwok TT. Epigallocatechin gallate up-regulation of miR-16 and induction of apoptosis in human cancer cells. *J Nutr Biochem*. 2010;21:140-6.
- [40] Zhou H, Chen JX, Yang CS, Yang MQ, Deng Y, Wang H. Gene regulation mediated by microRNAs in response to green tea polyphenol EGCG in mouse lung cancer. *BMC Genomics*. 2014;15 Suppl 11:S3.
- [41] Chen T, Williams TD, Mally A, Hamberger C, Mirbahai L, Hickling K, et al. Gene expression and epigenetic changes by furan in rat liver. *Toxicol*. 2012;292:63-70.
- [42] Regazzi R, Rodriguez-Trejo A, Jacovetti C. Insulin secretion in health and disease: nutrients dictate the pace. *Proc Nutr Soc*. 2015:1-11.
- [43] Esguerra JL, Bolmeson C, Cilio CM, Eliasson L. Differential glucose-regulation of microRNAs in pancreatic islets of non-obese type 2 diabetes model Goto-Kakizaki rat. *PLoS One*. 2011;6:e18613.
- [44] Nesca V, Guay C, Jacovetti C, Menoud V, Peyot ML, Laybutt DR, et al. Identification of particular groups of microRNAs that positively or negatively impact on beta cell function in obese models of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2013;56:2203-12.
- [45] Tattikota SG, Rathjen T, McAnulty SJ, Wessels HH, Akerman I, van de Bunt M, et al. Argonaute2 mediates compensatory expansion of the pancreatic beta cell. *Cell Metab*. 2014;19:122-34.
- [46] Milagro FI, Miranda J, Portillo MP, Fernandez-Quintela A, Campion J, Martinez JA. High-throughput sequencing of microRNAs in peripheral blood mononuclear cells: identification of potential weight loss biomarkers. *PLoS One*. 2013;8:e54319.
- [47] Gat-Yablonski G, Phillip M. Nutritionally-induced catch-up growth. *Nutrients*. 2015;7:517-51.
- [48] Pando R, Even-Zohar N, Shtaif B, Edry L, Shomron N, Phillip M, et al. MicroRNAs in the growth plate are responsive to nutritional cues: association between miR-140 and SIRT1. *J Nutr Biochem*. 2011;23:1474-81.
- [49] Zhang L, Hou D, Chen X, Li D, Zhu L, Zhang Y, et al. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Res*. 2012;22:107-26.
- [50] Wang K, Li H, Yuan Y, Etheridge A, Zhou Y, Huang D, et al. The Complex Exogenous RNA Spectra in Human Plasma: An Interface with Human Gut Biota? *PLoS One*. 2012;7:e51009.
- [51] Witwer KW, McAlexander MA, Queen SE, Adams RJ. Real-time quantitative PCR and droplet digital PCR for plant miRNAs in mammalian blood provide little evidence for general uptake of dietary miRNAs. *RNA Biology*. 2013;10:1080-6.
- [52] Snow JW, Hale AE, Isaacs SK, Baggish AL, Chan SY. Ineffective delivery of diet-derived microRNAs to recipient animal organisms. *RNA Biol*. 2013;10:1107-16.

- [53] Dickinson B, Zhang Y, Petrick JS, Heck G, Ivashuta S, Marshall WS. Lack of detectable oral bioavailability of plant microRNAs after feeding in mice. *Nat Biotech.* 2013;31:965-7.
- [54] Liang H, Zhang S, Fu Z, Wang Y, Wang N, Liu Y, et al. Effective detection and quantification of dietetically absorbed plant microRNAs in human plasma. *J Nutr Biochem.* 2015;26:505-12.
- [55] Zhang Y, Wiggins BE, Lawrence C, Petrick J, Ivashuta S, Heck G. Analysis of plant-derived miRNAs in animal small RNA datasets. *BMC Genomics.* 2012;13:381.
- [56] Chrupek M, Siipi H, Martinelli L. Bio-objects as «boundary crawlers:» the case of microRNAs. *Croat Med J.* 2012;53:285-8.
- [57] Lukasik A, Zielenkiewicz P. In silico identification of plant miRNAs in mammalian breast milk exosomes—a small step forward? *PLoS One.* 2014;9:e99963.
- [58] Baier SR, Nguyen C, Xie F, Wood JR, Zempleni J. MicroRNAs are absorbed in biologically meaningful amounts from nutritionally relevant doses of cow milk and affect gene expression in peripheral blood mononuclear cells, HEK-293 kidney cell cultures, and mouse livers. *J Nutr.* 2014;144:1495-500.
- [59] Bishop KS, Ferguson LR. The interaction between epigenetics, nutrition and the development of cancer. *Nutrients.* 2015;7:922-47.
- [60] Elamin BK, Callegari E, Gramantieri L, Sabbioni S, Negrini M. MicroRNA response to environmental mutagens in liver. *Mutat Res.* 2011;717:67-76.
- [61] Bollati V, Angelici L, Rizzo G, Pergoli L, Rota F, Hoxha M, et al. Microvesicle-associated microRNA expression is altered upon particulate matter exposure in healthy workers and in A549 cells. *J Appl Toxicol.* 2015;35:59-67.
- [62] DiMarco DM, Fernandez ML. The Regulation of Reverse Cholesterol Transport and Cellular Cholesterol Homeostasis by MicroRNAs. *Biology (Basel).* 2015;4:494-511.
- [63] Abente EJ, Subramanian M, Ramachandran V, Najafi-Shoushtari SH. MicroRNAs in obesity-associated disorders. *Arch Biochem Biophys.* 2015. Doi: 10.1016/j.abb.2015.09.018
- [64] Yang J, Hirschi KD, Farmer LM. Dietary RNAs: New Stories Regarding Oral Delivery. *Nutrients.* 2015;7:3184-99.

