

Uma breve revisão sobre a teoria de transferência de miRNA entre reinos

A brief review of the theory of cross-kingdom miRNA transfer

Una breve revisión de la teoría de la transferencia de miRNA entre reinos

Recebido: 05/03/2021 | Revisado: 11/03/2021 | Aceito: 12/03/2021 | Publicado: 20/03/2021

Maria Fernanda de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4492-6919>
Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: pomona.br@gmail.com

Ana Elizabeth Cavalcante Fai

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8594-2667>
Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: bethfai@yahoo.com.br

Marta Citelli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1380-3729>
Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil
E-mail: martacitellir@gmail.com

Resumo

Recentemente, o meio acadêmico vem discutindo a teoria chamada de “cross-kingdom transfer”, em tradução livre “transferência cruzada entre reinos” no âmbito nutricional. Esta tem ideia de que material genético bioativo tem o potencial de ser transferido de plantas para animais via trato gastrointestinal. Ao alcançar o seu sítio de atuação, esta molécula exógena seria capaz de influenciar as condições fisiológicas de seu organismo receptor. Os microRNAs (miR) são moléculas não codificantes, cotadas como sendo capazes de realizar esta ação. São responsáveis por aderirem a moléculas de RNA mensageiros e impedir sua tradução, desta forma regulando vários mecanismos celulares, inclusive o ciclo celular. Este artigo de revisão teve como objetivo montar um panorama das pesquisas neste controverso campo. Conclui-se que, embora sejam necessárias mais pesquisas a respeito para que se possam esclarecer questões relativas ao tema, alguns estudos indicam que os alimentos são capazes de veicular a transferência de miRNAs de um reino ou de uma espécie para outra.

Palavras-chave: Cross-kingdom transfer; MiRNA; Dieta baseada em plantas; XenomiRs.

Abstract

Recently, the academic world has been discussing the theory called “cross-kingdom transfer” in the nutritional scope. It has the idea that bioactive genetic material has the potential to be transferred from plants to animals via the gastrointestinal tract. Upon reaching its site of action, this exogenous molecule would be able to influence the pathophysiological conditions of its recipient organism. MicroRNAs (miR) are molecules listed as capable of carrying out this action. They are responsible for adhering to messenger RNA molecules and preventing their translation, thereby regulating various cellular mechanisms, including cell cycle control. This review article aimed to provide an overview of research in this controversial field. It is concluded that, although more research is needed in order to clarify issues related to the theme, some studies indicate that food can serve to the transfer of miRNAs from one kingdom or from one species to another.

Keywords: Cross-kingdom transfer; MiRNA; Plant-based diet; XenomiRs.

Resumen

Recientemente, el mundo académico ha estado discutiendo la teoría denominada “regulación entre reinos”, en traducción libre “regulación cruzada entre reinos” en el ámbito nutricional. Tiene la idea de que el material genético bioactivo tiene el potencial de ser transferido de plantas a animales a través del tracto gastrointestinal. Al llegar a su sitio de acción, esta molécula exógena podría influir en las condiciones fisiopatológicas de su organismo receptor. Los microARN (miR) son moléculas enumeradas como capaces de llevar a cabo esta acción. Son los encargados de adherirse a las moléculas de ARN mensajero y prevenir su traducción, regulando así varios mecanismos celulares, incluido el control del ciclo celular. Este artículo de revisión tuvo como objetivo proporcionar una descripción general de la investigación en este controvertido campo. Se concluye que, si bien se necesitan más investigaciones para esclarecer cuestiones relacionadas con el tema, algunos estudios indican que los alimentos pueden transmitir la transferencia de miARN de un reino o de una especie a otra.

Palabras clave: Transferencia entre reinos; MiARN; Dieta a base de plantas; XenomiRs.

1. Introdução

A recente teoria chamada de “cross-kingdom transfer” implica na ideia de que material genético bioativo, de origem dietética, tem o potencial de ser transferido de plantas, algas e outros seres vivos para animais, via trato gastrointestinal. Ao alcançar o seu sítio de atuação, esta molécula exógena seria capaz de influenciar as condições fisiológicas do organismo receptor. Os miRNAs (miR) são cotados como sendo capazes de realizar esta ação (Li, Xu, & Li, 2018). Os miR são moléculas não codificantes, mas que modulam a síntese de diversas proteínas.

Sabe-se que os miR desempenham papéis fundamentais na regulação de mecanismos homeostáticos e outros processos essenciais, como apoptose e ciclo celular (Friedman, Farh, Burge, & Bartel, 2009). Agem ligando-se a um RNA mensageiro (RNAm) alvo, bloqueando sua tradução ou levando à sua degradação (Peng & Croce, 2016).

No ano de 2012, foi publicado um estudo que identificou a presença de miR de arroz em amostras de sangue humano, dando início ao debate sobre a função que estes miR exógenos (xenomiRs) de origem dietética poderiam desempenhar no organismo humano (Zhang et al., 2012). Até aquele momento, acreditava-se que todo material genético de matriz alimentar fosse degradado ao longo do processo de digestão, não havendo possibilidade de absorção de alguma molécula ativa, somente de seus subprodutos (Witwer, 2012).

Neste artigo de revisão, a partir de pesquisa bibliográfica, iremos transcorrer sobre a teoria de regulação cruzada entre reinos e espécies e a possibilidade de miRs atuarem como moléculas efetoras.

2. Metodologia

Foi realizada uma revisão de natureza bibliográfica com abordagem qualitativa, realizada através da pesquisa de artigos científicos indexados nas bases de dados eletrônicas Pubmed, Web of Science, Scopus e Google Scholar. Os critérios de inclusão foram: artigos com disponibilidade na íntegra, que apresentavam coesão com a temática do estudo em tela, e que relacionam exclusivamente a transferência de miRNA entre os reinos vegetal e animal.

3. Resultados e Discussão

MicroRNAs (miRs) são moléculas de RNA não-codificantes de aproximadamente 23 nucleotídeos de comprimento, responsáveis por regular processos essenciais, como apoptose e ciclo celular. Atuam no processo de tradução, ligando-se ao RNA mensageiro (RNAm) alvo e impedindo a síntese de sua proteína correspondente quando seu encaixe é de baixa complementariedade, ou levando à degradação do RNAm, quando o encaixe é de alta complementariedade (Peng & Croce, 2016).

O primeiro estudo que identificou miR de origem dietética em amostras de sangue de voluntários chineses (Zhang et al., 2012) causou grande controvérsia, não só por afirmar que o organismo humano era capaz de absorver material genético ativo, mas por descrever seu impacto na expressão de genes em mamíferos. Os experimentos indicaram que o miR168a, de origem vegetal, foi capaz de aumentar a expressão de receptor de lipoproteína no fígado de camundongos.

Entendia-se que DNA e RNAs não seriam capazes de exercer nenhuma ação depois de passarem pelo processo de digestão (Witwer, 2012), contrariamente ao proposto por Zhang e colaboradores (Zhang et al., 2012).

Desde então, muitos trabalhos foram publicados a respeito, corroborando com a teoria de transferência e regulação cruzada, ou negando sua possibilidade. Na Tabela 1, pode-se ver uma síntese dos principais estudos publicados até o momento que investigaram a possibilidade transferência de miRNAs de plantas para animais. Alguns destes estudos investigaram também a capacidade de regulação exercida por estes miRNAs no organismo receptor. Pesquisas sugerem que quantidades significativas deste material genético poderiam continuar ativas, mesmo depois de cocção (Phillip, Ferro, & Tate, 2015) e digestão (Zhang et al., 2012), protegidas por camadas lipídicas e proteínas carreadoras da ação de ácidos e enzimas digestivas.

Tabela 1. Alguns estudos sobre a transferência de miRNA entre *plantas e animais* e principais resultados encontrados.

Fonte vegetal	Organismo estudado	Método e Resultados encontrados	Referência
<i>Estudos que detectaram transferência de miRNA</i>			
Arroz (<i>Oriza sativa</i>)	Homem e camundongo	Os autores identificaram miRs exógenos, de plantas, no soro humano e em diversos tecidos de camundongos. O miR168, abundante em arroz, foi um dos xenomiR encontrados com maior abundância no soro de indivíduos chineses. Além de ser transferido para o plasma humano, os autores mostraram que estes miR eram capazes de regular a expressão de RNAm e funções biológicas em camundongos.	Zhang <i>et al</i> 2012
Plantas diversas, não especificadas		Foram analisados 12 bancos de dados brutos de small RNA (sRNA) de exossomas de leite humano e de porco. Foram identificados 35 miRs de plantas nos exossomas humanos e 17 miRNAs nos exossomas de porco. Por meio de ferramentas de bioinformática, as análises de predição sugerem que as moléculas acima mencionadas podem interagir com RNAm que codificam vários fatores de transcrição, receptores de proteínas, transportadores e proteínas relacionadas ao sistema imunológico, assim potencialmente influenciando o organismo humano. Tomados em conjunto, as análises indicam a ocorrência abundante de miRs de plantas em exossomos de leite materno de mamíferos.	Lukasik <i>et al</i> 2014
Ervas medicinais: madressilva, camomila, acácia do Japão, lavanda, malva azul, ginseng, hibisco, salgueiro	Camundongo	Camundongos foram alimentados por sete dias com dietas suplementadas com ervas. O soro e a urina foram analisados após o período de intervenção, tendo sido detectada a presença abundante do miR2911 em soro dos animais suplementados com todas as ervas, exceto lavanda. Então, os animais receberam o miR2911 sintético por gavagem e foi identificado seu aumento no soro dos animais.	Yang <i>et al</i> 2015
Plantas não especificadas, e madressilva (<i>Lonicera japonica</i>)	Homem e camundongo	O estudo identificou a presença de miRs de plantas no cordão umbilical e no líquido amniótico humano, indicando a ocorrência de transferência de miR de origem exógena da mãe para o feto. Considerando a presença abundante do miR2911 na erva medicinal madressilva, camundongos receberam 0,5 mL de uma decocção de madressilva e o plasma materno e fetal foram coletados 3h após a gavagem. Os resultados revelaram que os níveis do miR2911 aumentaram no plasma materno, na placenta e no feto, sugerindo que o miR2911 possa ser transferido eficientemente da placenta para o fígado fetal. Os dados sugerem que miRNAs da dieta possam passar não apenas pelo trato gastrointestinal, mas também pela placenta.	Li <i>et al</i> 2015
Milho (<i>Zea mays</i>)	Porco	Os animais foram alimentados por sete dias com milho fresco. As análises de tecidos e soro revelaram a presença de miRNAs derivados do milho. Além disso, experimentos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> revelaram que miRNAs da dieta com milho eram capazes de atravessar o trato gastrointestinal e entrar na corrente sanguínea suína. Os resultados indicaram que os miRNAs derivados do milho podem ainda regular a expressão de genes suínos.	Luo <i>et al</i> 2017

Estudos que não detectaram transferência de miRNA

Arroz (<i>Oriza sativa</i>)	Homem, porco, camundongo e insetos	Os autores buscaram por sequências de miRNAs de plantas em bancos de dados públicos de sRNA de vários tecidos de mamíferos. As análises revelaram que miRNAs de plantas estavam presentes nos conjuntos de dados de sRNAs de animais, mas sugerem que estes miRNAs podem se originar no processo de sequenciamento, e que o acúmulo de miRNAs de plantas por via dietética parece não ser universal em animais.	Zhang <i>et al</i> 2012
Arroz (<i>Oriza sativa</i>)	Camundongo	Camundongos foram alimentados com dieta rica em arroz e os resultados não evidenciam a captação de miRNAs de arroz e nem a regulação da síntese de proteínas pelos miRNAs.	Dickinson <i>et al</i> 2013
Azeite – oliveira (<i>Olea europaea</i>)	Homem	Cinco voluntários receberam 40 mL de azeite de oliva extra virgem e o sangue foi analisado para detecção de miRNAs de azeitona (<i>Olea europaea</i>) 2h após a ingestão. Não foi detectada nenhuma quantidade de miRNA de azeite de oliva no plasma humano nestas condições.	Micó <i>et al</i> 2016
Milho (<i>Zea mays</i>)	Camundongo	Camundongos foram alimentados por duas semanas com uma dieta enriquecida com farinha de milho ou com um pool de miRNAs isolados a partir de milho. Usando um modelo de digestão <i>in vitro</i> , identificou-se extensa degradação dos miRNAs, sendo recuperados menos de 1% do total. As análises do sangue e de tecidos revelaram que não houve aumento dos níveis de miRNAs nestes compartimentos após a intervenção.	Huang <i>et al</i> 2018
Frutas (abacate, banana, laranja, maçã e melão) e poleo	Homem, camundongo e abelha	Após a ingestão de frutas repletas de microRNAs de plantas (miR156a, miR159a e miR169a), atletas saudáveis não apresentaram quantidades destes miR detectáveis no sangue, assim como os camundongos e as abelhas.	Snow <i>et al</i> 2013
Bebida industrializada à base de soja com frutas (não especificadas)	Macaco	Dois macacos foram alimentados com um shake comercial vegano, à base de frutas. O sangue foi coletado 1h, 4h e 12h após a ingestão. O experimento aponta um número de cópias de miRNA no plasma extremamente baixo. Os autores concluem que os dados não suportam a ideia de que grandes quantidades de miRNAs de plantas entrem na corrente sanguínea.	Witwer <i>et al</i> 2013.

Fonte: Autores.

Tendo em vista a importante mudança de paradigma proposta pelo estudo de Zhang e colaboradores, foram reunidos nesta revisão os resultados dos principais estudos que objetivaram avaliar a transferência de miR de origem vegetal para animais, os quais estão destacados na Tabela 1.

De acordo com a Tabela 1, as fontes de miR vegetal mais estudadas foram: arroz, frutas, madressilva e milho. O arroz foi o alimento mais frequentemente estudado por ser o primeiro a ser documentado como capaz de ser transferido e de exercer atividade biológica no organismo receptor (Zhang et al., 2012). Já as frutas, foram escolhidas por serem componente importante em dietas consideradas saudáveis (Micó et al., 2016). Quanto ao milho, foi utilizado por sua importância nutricional e econômica (Huang, Davis & Wang, 2018). Não só alimentos, mas também ervas medicinais foram pesquisadas.

A madressilva (*Lonicera japonica*), uma planta presente na fitoterapia oriental (Li et al., 2015), foi investigada em dois estudos. Um dos motivos para ser objeto de estudo é a presença expressiva do miRNA2911 (miR2911), um miR documentado como sendo especialmente estável e resistente à cocção (Zhou et al., 2015). Em um dos estudos (Yang et al., 2015), os animais que ingeriram a planta medicinal apresentaram maiores quantidades de miR2911 em amostras de soro e urina.

Alimentos processados foram investigados em dois estudos. No primeiro, listado na Tabela 1 (Micó et al., 2016), foram analisadas amostras de azeite e cerveja, enquanto no segundo (Witwer et al., 2013), foram utilizadas amostras de uma bebida industrializada à base de soja com frutas. Os pesquisadores do primeiro estudo não conseguiram encontrar miR nas amostras dos alimentos, mas o grupo de Witwer conseguiu. Porém, observou-se um número de cópias de miRNA plasmático extremamente baixo. Os autores concluem que os dados não suportam a ideia de que grandes quantidades de miRNAs de plantas sejam absorvidos.

Os artigos apresentados na Tabela 1 levaram em consideração alguns itens que podem alterar o conteúdo de miR nas amostras, tais como as partes do vegetal utilizado (Yang et al., 2015) e o refino do alimento (Micó et al., 2016). Contudo, ainda há uma condição da planta que carece de estudos quanto a absorção de miR: o estágio de desenvolvimento do vegetal. Considerando-se que os miR desempenham um importante papel no crescimento da planta (Chin et al., 2016), estudos que exploram estas condições ainda precisam ser realizados.

A melhora da biodisponibilidade de uma molécula é influenciada diretamente pela quantidade ingerida: quanto mais se ingere, maior é a chance desta molécula percorrer o trato intestinal em sua forma ativa e ser absorvida pelo organismo (Witwer & Zhang, 2017). Vários mecanismos de absorção de miR foram propostos. Para que o miR de fonte dietética resista em sua forma ativa e seja absorvido pelo epitélio intestinal ele precisaria ser transportado encapsulado em vesículas ou em um complexo ribonucleoproteico. Portanto, a proposição atualmente aceita é que a molécula de miR deixe a matriz alimentar encapsulada, atravesse a barreira epitelial por trânsito paracelular ou transcelular e atinja o sistema linfático ou o circulatório e o miR seja capturado por células M (Chan & Snow, 2017).

Porém, no artigo de Yang et al., 2015, onde os pesquisadores quantificam o miR2911 em várias ervas medicinais, a amostra que obteve o nível mais elevado, acácia japonesa, não foi a que mais influenciou os níveis séricos de miR2911 dos camundongos. Ao invés disso, os camundongos alimentados com madressilva foram os que apresentaram as maiores quantidades de miR2911 circulante. Destacou-se assim a necessidade de se avaliar a resistência da molécula ao longo do trato gastrointestinal e sua biodisponibilidade.

Enquanto o artigo de Huang, Davis e Wang, 2018, indica elevada degradação de miR originário do milho ao longo do processo digestório, um outro artigo que quantificou os níveis de miR em grãos de soja e arroz, tanto na estocagem, no preparo e em um simulacro do processo digestório, evidenciou que ainda existe quantidade significativa destas moléculas para serem supostamente absorvidas (Phillip, Ferro, & Tate, 2015).

Talvez essa diferença entre os estudos se deva provavelmente aos métodos empregados. Enquanto um submeteu a

amostra de milho a uma simulação de digestão gástrica de duas horas (Huang, Davis, & Wang, 2018), outro utilizou um protocolo de 1 hora de digestão apenas (Phillip, Ferro, & Tate, 2015). Outro fator relevante são as amostras de grãos diferentes: o primeiro utilizou amostras de milho fresco e o segundo amostras de soja e arroz cozidos.

Outro ponto importante quanto à biodisponibilidade é a viabilidade de se conseguir quantidades de miR ativo o suficiente – por via oral - para causar impacto em um organismo grande e complexo como o humano (Chan & Snow, 2017). Existem estimativas que corroboram a hipótese de ser viável (Chin et al., 2016) e outras que não (Snow et al., 2013).

Um estudo que analisou a ação do miR159 em células de câncer de mama (Chin et al., 2016), constatou que os níveis deste miR, encontrado em uma amostra de pool sérico de voluntários, seria próximo dos níveis de miR159 séricos de amostras provenientes de camundongos alimentados com o miR, quando calculado adaptando-se a área de superfície dos organismos. Os autores também consideram a possibilidade de alguns tecidos acumularem o miR até o nível de relevância biológica.

Já o artigo de Snow et al., 2013, estima que seria necessário que um indivíduo ingerisse, no mínimo, 1,670 Kg de melão cantaloupe para atingir o número necessário de cópias de miR156a no trato gastrointestinal. E como a estimativa de consumo médio de frutas por dia de um europeu fica entre 103-454g, essa proposta não seria viável. Os autores assumem que o conteúdo de miR varia de acordo com o grau de maturação da fruta, porém declaram que a variação documentada não seria o suficiente para atingir a demanda.

Outro ponto que precisa de mais estudos diz respeito à influência da microbiota intestinal. O material genético de origem dietética, ao passar pelo trato digestório, sofre a ação de enzimas responsáveis pela clivagem destas moléculas, tais como fosfatases e nucleosidases. Elas promovem a quebra de nucleotídeos em nucleosídios e bases purínicas. Essas micromoléculas são absorvidas pelos enterócitos e utilizadas pelo organismo humano (Witwer & Zhang, 2017).

Esse mesmo material pode ser absorvido pelos microrganismos que compõem a microbiota humana. Estudos apontam que nucleotídeos de fonte alimentar podem promover o crescimento de bactérias benéficas presentes na microbiota intestinal, como *Bifidobacterium*. Logo, é esperado que uma grande presença de material genético de origem dietética cause impacto na microbiota. Entretanto, ainda não são claros os efeitos e se eles decorrem da transferência de material genético dos alimentos para as bactérias intestinais ou se resultam de sua utilização como substrato para o crescimento de bactérias intestinais (Witwer & Zhang, 2017).

Yang et al, 2015, relataram um aumento importante no número de colônias nas amostras fecais de camundongos alimentados com madressilva em comparação com o grupo controle. Mas os pesquisadores concluíram que esse efeito foi causado pela erva medicinal, e não pelo miR2911, pois o grupo alimentado com a forma sintética obteve os mesmos resultados quanto a microbiota do grupo controle. Ainda neste estudo, os autores concluíram que a microbiota não influenciava na absorção do miR, dado que os níveis séricos camundongos alimentados com miR sintético foram próximos do grupo alimentado com madressilva.

4. Considerações Finais

Pode-se concluir, diante do que foi apresentado, que este novo campo de estudos permanece inconcluso, carecendo de mais pesquisas a respeito, principalmente que possam esclarecer o suposto mecanismo de absorção de miR e também seus mecanismos de ação no organismo receptor.

É patente que a adoção de um padrão de nutrição adequado e saudável é indispensável na promoção da saúde e a prevenção de doenças. Sabe-se também que a dieta tem influência direta na atividade metabólica e na composição da microbiota intestinal, refletindo diretamente sobre as respostas imune, inflamatórias, entre outras, com consequências para a saúde. Entre as principais recomendações para dieta equilibrada cita-se o consumo regular de frutas e hortaliças. A pergunta central aqui é se, além dos vários macros, micronutrientes e fitoquímicos presentes nessas matrizes - e sabidamente bioativos -

se também existe a transferência de miRs ao consumir tais alimentos e se estes também têm um papel ativo na dieta. Logo, compreender melhor a teoria de regulação cruzada entre reinos e espécies pode trazer à luz a possibilidade de miRs atuarem de fato como moléculas efectoras de origem dietética e visa contribuir para a otimização/personalização de dietas para modulação de questões bioquímicas/fisiológicas específicas, além de ajudar a entender melhor a complexa relação entre os diferentes sistemas biológicos.

Sugerem-se, para trabalhos futuros, estudos que se debrucem sobre o desenvolvimento e validação de métodos analíticos, bem como outras técnicas de preparação de amostras para a detecção destes miRs. Pesquisas como essa são essenciais para aumentar a compreensão sobre o tema. Em adição, estudos mais aprofundados que abordem o tipo de dieta e quantidade de alimento alvo ingerido, e que busquem compreender a interação – e se é que há – dos miRs com microbiota intestinal também são fundamentais.

Agradecimentos

Ao apoio institucional da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e à Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO).

Referências

- Barampama, Z., & Simard, R. E. (1994). Oligossaccharides, antinutritional factors, and protein digestibility of dry beans as effect processing. *Journal Food Science*, 59(4), 833-838.
- Chan, S. Y., & Snow, J. W. (2017). Formidable challenges to the notion of biologically important roles for dietary small RNAs in ingesting mammals. *Genes & Nutrition*, 12(13), <https://doi.org/10.1186/s12263-017-0561-7>.
- Chin, A. R., Fong, M. Y., Somlo, G., Wu, J., Swiderski, P., Wu, X., & Wang, S. E. (2016). Cross-kingdom inhibition of breast cancer growth by plant miR159. *Cell Research*, 26(2), 217–228.
- Dang, P. M., & Chen, Y. C. (2013). Modified method for combined DNA and RNA isolation from peanut and others oil seeds. *Molecular Biology Report*, 40, 1563-1568.
- Dickinson, B., Zhang, Y., Petrick, J.S., Heck, G., Ivashuta, S., & Marshall, W.S. (2013). Lack of detectable oral bioavailability of plant microRNAs after feeding in mice. *Nature Biotechnology* 31(11):965-967. 10.1038/nbt.2737.
- Friedman, R. C.; Farh, K. K.-H.; Burge, C. B.; & Bartel, D. P. (2009) Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Research*, 19(1), 92-105.
- Gong, C., Tian, J., Wang, Z., Gao, Y., Wu, X., Ding, X., Qiang, Li, G., Han, Z., Yaun, Y., & Gao, S. (2019). Functional exosome-mediated co-delivery of doxorubicin and hydrophobically modified microRNA 159 for triple-negative breast cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*, 17(93), <https://doi.org/10.1186/s12951-019-0526-7>.
- Hu, Y. B., Li, C. B., Song, N. Zou, Y., Chen, S. D., Ren, R. J., & Wag, G. (2016). Diagnostic value of microRNA for Alzheimer's Diseases: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 8(13), 1-13.
- Huang, H., Davis, C. D., & Wang, T. (2018). Extensive Degradation and Low Bioavailability of Orally Consumed Corn miRNAs in Mice. *Nutrients*, 10(2), 215. <https://doi.org/10.3390/nu10020215>
- Khokar, S.; & Chauhan, B.M. (1986) Antinutritional factors in Moth Bean (*Vigna aconitifolia*): Varietal differences and effects of methods of domestic processing and cooking. *Journal Food Science*, 51(3), 591-594.
- Li, J., Zhang, Y., Li, D., Liu, Y., Chu, D., Jiang, X., Hou, D., Zen, K., & Zhang, C. Y. (2015). Small noncoding RNAs transfer through mammalian placenta and directly regulate fetal gene expression. *Protein and Cell* 63:391-396 10.1007/s13238-015-0156-2.
- Li, Z., Xu, R., Li, N. (2018). MicroRNAs from plants to animals, do they define a new Messenger for communication? *Nutrition & Metabolism*, 15 (68)
- Lukasik, A., & Zielenkiewicz, P. (2014). In silico identification of plant miRNAs in mammalian breast milk exosomes - a small step forward? *PLOS ONE* 9(6):e99963 DOI 10.1371/journal.pone.0099963.
- Luo, Y., Wang, P., Wang, X., Wang, Y., Mu, Z., Li, Q., Fu, Y., Xiao, J., Li, G., Ma, Y., Gu, Y., Jin, L. M. J., Tang, Q., Jiang, A., Li, X., & Li, M. (2017). Detection of dietetically absorbed maize-derived microRNAs in pigs. *Scientific Reports* 7:645 DOI 10.1038/s41598-017-00488-y.
- Micó, V., Martín, R., Lasunción, M. A., Ordovás, J. M., & Daimiel, L. (2016). Unsuccessful detection of plant MicroRNAs in Beer, extra virgin olive oil and human plasma after an acute ingestion of extra virgin olive oil. *Plant Foods for Human Nutrition* 71(1):102-108. 10.1007/s11130-016-0534-9.

- Millar, A. A., & Lohe, A., Wong, G. (2019). Biology and Function of miR159 in plants. *Plants*, 8(8), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6724108/>
- Oliveira, M. A. (2012). Brotos de soja: produção, características nutricionais, análise sensorial e processamento. *Brazilian Journal Food Technology*, 16(1), 34-41.
- Peng, Y., & Croce, C. M. (2018). The role of microRNAs in human câncer. *Signal transduction and targeted therapy*, 1. Recuperado em: janeiro, 2018, de <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2015.4>.
- Perge, P., Nagy, Z., Decmann, A., Igaz, I., & Igaz, P. (2017). Potential relevance of microRNAs in inter-species epigenetic communication and implications for disease pathogenesis. *RNA Biology*, 14(4), 391-401.
- Philip, A., Ferro, V. A., & Tate, R. (2015). Determination of the potential bioavailability of plant microRNA using a simulated human digestion process. *Molecular Nutrition & Food Research* (59), 1962-1972.
- Reyes, J. L., & Chua, N. H. (2007). ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during Arabidopsis seed germination. *The Plant Journal*, 49(4), 592-606.
- Snow, J.W., Hale, A. E., Isaacs, S. K., Baggish, A. L., & Chan, S. Y. (2013). Ineffective delivery of diet derived microRNAs to recipient animal organisms. *RNA Biology* 10(7):1107-1116 DOI 10.4161/rna.24909
- Witwer, K. W. (2012). XenomiRs and miRNA homeostasis in health and disease. *RNA Biology*, 9(9), 1147-1154.
- Witwer, K. W., McAlexander, M. A., Queen, S. E., & Adams, R. J. (2013). Real-time quantitative PCR and droplet digital PCR for plant miRNAs in mammalian blood provide little evidence for general uptake of dietary miRNAs: limited evidence for general uptake of dietary plant xenomiRs. *RNA Biology* 10(7):1080-1086. 10.4161/rna.25246.
- Witwer, K. W., & Zhang, C. Y. (2017). Diet-derived microRNAs: unicorn or silver bullet? *Genes & Nutrition*, 12(15). <https://doi.org/10.1186/s12263-017-0564-4>.
- Yang, J., Farmer, L M., Agyekum, A. A. A., Elbaz-Younes, I., & Hirschi, K. D. (2015). Detection of na abundant plant-based small RNA in healthy consumers. *PLOS ONE* 10(9):e0137516 DOI 10.1371/journal.pone.0137516.
- Zhang, L., Hou, D., Chen, X., Li, D., Zhu, L., Zhang, Y., Li, J., Bian, Z., Liang, X., Cai, X., Yin, Y., Wang, C., Zhang, T., Zhu, D., Xu, J., Chen, Q., Ba, Y., Liu, J., Wang, Q., Chen, J., Wang, J., Wang, M., Zhang, Q., Zhang, J., Zen, K., & Zhang, C. Y. (2012). Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA. *Cell Research*, 22(1), 107-126.
- Zhang, Y., Wiggins, B.E., Lawrence, C., Petrick, J., Ivashuta, S., & Heck, G. (2012). Analysis of plant-derived miRNAs in animal small RNA datasets. *BMC Genomics* 13:381. 10.1186/1471-2164-13-3
- Zhou, Z., Li, X., Liu, J., Dong, L., Chen, Q., Liu, J., & Kong, H. (2015). Honeysuckle-encoded atypical microRNA2911 directly targets influenza A viruses. *Cell Research*, 25(1), 39-49.