



Revisión

Evaluación de las modificaciones genéticas que induce la dieta a través de las células mononucleares sanguíneas

D. A. de Luis, O. Izaola y R. Aller

Center of Investigation of Endocrinology and Nutrition, Medicine School and Dpt. of Endocrinology and Investigation. Hospital Clínico Universitario. University of Valladolid. Valladolid Spain.

Resumen

El término nutrigenómica fue creado para describir cómo la nutrición afecta a los genes y a las funciones de las proteínas, a nivel transcripcional, proteómico y metabólico. El uso de las modificaciones en la expresión génica en las células mononucleares sanguíneas (CMNS) podría ser un modelo que permita evaluar los estudios de intervención dietética con el objetivo de comprender los mecanismos subyacentes y la influencia de la dieta y los nutrientes en la aterosclerosis, la resistencia a la insulina, la obesidad y la diabetes mellitus. Existen trabajos que han modificado el aporte dietético de colesterol, grasas poliinsaturadas, grasas monoinsaturadas y antioxidantes, y disminuido el aporte calórico, mostrando una gran variedad de efectos sobre la expresión de RNAm en CMNS de genes relacionados con la inflamación, la inmunidad, el metabolismo lipídico, etc. Estos hallazgos moleculares afianzan el conocimiento sobre la respuesta de nuestro organismo a la dieta y abren la posibilidad del análisis rápido de nuevas vías diagnósticas e incluso de nuevas herramientas terapéuticas.

(*Nutr Hosp.* 2015;32:2478-2483)

DOI:10.3305/nh.2015.32.6.10052

Palabras clave: *Expresión génica. RNAm. Nutrigenómica. Células mononucleares sanguíneas.*

Introducción

La función principal del sistema inmune es la de prevenir las infecciones por microorganismos como bacterias, virus, hongos y parásitos. Las respuestas inmunes están mediadas por los leucocitos, que derivan de precursores en la médula ósea y que migran para proteger los tejidos periféricos¹. Las células del

ASSESSMENT OF THE GENETIC MODIFICATION INDUCING DIET THROUGH BLOOD MONONUCLEAR CELLS

Abstract

The term nutrigenomics was created to describe how nutrition affects genes and the functions of the protein, at the transcriptional level, proteomic, and metabolic. Using changes in gene expression in blood mononuclear cells could be a model to assess the dietary intervention studies in order to understand the underlying mechanisms and impact of diet and nutrients in atherosclerosis, resistance insulin, obesity and diabetes mellitus. There are studies that have changed the dietary intake of cholesterol, polyunsaturated fat, monounsaturated, antioxidants and decreased caloric intake showing a variety of effects on the expression of mRNA in blood mononuclear cells related to inflammation, immunity, lipid metabolism genes, etc. These molecular findings entrench awareness of our body's response to diet and open up the possibility of rapid analysis of new diagnostic pathways in this area of knowledge and even new therapeutic tools.

(*Nutr Hosp.* 2015;32:2478-2483)

DOI:10.3305/nh.2015.32.6.10052

Key words: *Gene expression. RNAm. Nutrigenomics. Blood mononuclear cells.*

sistema inmune innato, tales como monocitos, macrófagos y neutrófilos, proporcionan por tanto la primera línea de defensa contra las infecciones bacterianas. La respuesta inmune innata implica la secreción de citoquinas de las células inmunes, que se traducen en la inflamación y una mayor activación del sistema inmune adaptativo¹. Por ejemplo, los linfocitos son las células del sistema inmunitario adaptativo, el cual reconoce patógenos específicos. Los linfocitos son la población celular más grande, denominadas células mononucleares periféricas sanguíneas (CMNS), que también incluyen los monocitos¹.

Teniendo en cuenta la abundancia de estas células y su accesibilidad se han desarrollado diferentes métodos para estudiar el RNA mensajero (RNAm), pu-

Correspondencia: Dr. D. A de Luis
Professor Associated of Nutrition
Executive Director of Institute of Endocrinology and Nutrition.
Medicine School. Valladolid University. C/Los perales 16.
Simancas 47130. Valladolid, Spain.
E-mail: dadluis@yahoo.es

Recibido: 9-X-2015.
Aceptado: 9-XI-2015.

diéndose usar desde métodos de expresión de un solo gen hasta perfiles de expresión de todo el genoma (transcriptómica). Los métodos que más se usan para estudiar la expresión de los genes individuales son la RT-PCR², y más recientemente, RT-PCR cuantitativa (qRT-PCR)³. El desarrollo de estos métodos ha abierto una nueva vía en los estudios de expresión génica⁴, se han identificado nuevos genes y vías que no habían sido anteriormente ligados a determinados tratamientos o patologías.

El término nutrigenómica fue creado para describir cómo la nutrición afecta a los genes y las funciones de la proteínas, a nivel transcripcional, proteómico y metabólico⁵. De este modo, los nutrientes pueden afectar a nivel transcripcional a los genes influyendo en el control de la transcripción y actuando sobre factores de transcripción específicos⁶. Por ejemplo, algunos factores de transcripción pueden ser modulados por los componentes de la dieta, así los flavonoides, ácidos grasos, la vitamina E y el colesterol actúan sobre el factor nuclear-kappa-B (NF_κB), el receptor de pregnano X, factor activación nuclear de los peroxisomas (PPAR) y esterol-sensibles al elemento de unión proteínas, respectivamente⁷.

Por otro lado, en estos momentos las enfermedades crónicas como la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) son uno de los principales campos de investigación en la nutrición. La intervención nutricional se ha mostrado útil para prevenir el desarrollo y las complicaciones de estas enfermedades⁸. Existen diferentes estudios que están evaluando la modulación que ejercen diferentes polimorfismos de un único nucleótido sobre la intervención nutricional⁹, sobre la intervención farmacológica¹⁰ o la cirugía bariátrica¹¹ en el paciente obeso. Así como estudios que evalúan diferentes marcadores en su respuesta a la intervención dietética¹².

Dentro de todos estos nuevos conocimientos, la transcriptómica puede ayudar a proporcionar más información sobre potenciales biomarcadores de ciertas enfermedades o incluso cambios fisiológicos relacionados con la patogénesis de la enfermedad. De estos estudios con aproximación molecular, pueden surgir, los primeros biomarcadores o perfiles transcriptómicos ("Firmas genéticas"), que podrían darnos con el tiempo una posible intervención en la prevención de una potencial enfermedad que pudiera desarrollarse en el futuro. En este contexto y con el objetivo de evaluar el papel de los alimentos y nutrientes sobre la salud, los tejidos como el músculo, el hígado y la grasa han sido usados como fuentes de información. No obstante la accesibilidad a estos tejidos sanos genera ciertas contraindicaciones éticas o metodológicas. Por ejemplo, los tejidos adiposos y musculares son bastante accesibles, pero la cantidad de las muestras podría no ser suficiente para la realización de perfiles de expresión génica, RT-PCR y/o análisis de proteínas. Por otro lado, las muestras de tejido hepático solo se obtienen en sujetos con patologías hepáticas, no estando indicada la realización de una biopsia en un sujeto sano.

Por tanto la búsqueda de un material biológico más accesible parece ser una prioridad en una época donde la obtención de información por parte de las nuevas tecnologías parece no tener límite. Un candidato ideal son las células mononucleares sanguíneas (CMNS), que reflejan por ejemplo perfectamente la regulación hepática metabolismo del colesterol¹⁴ y puede migrar a través de la circulación de la sangre e infiltrarse en diversos tejidos tales como el endotelio y tejido adiposo¹⁵. Además las células mononucleares también pueden reflejar las respuestas a modificaciones en la dieta y a los medicamentos a nivel de la expresión génica¹⁶. Una de las grandes ventajas de estos estudios con CMNS, es la fácil accesibilidad a este tejido. De este modo estas células se pueden recoger fácilmente y de manera repetida en cantidades suficientes con mínimas molestias para el paciente, a diferencia del tejido adiposo, el músculo y los tejidos del hígado. Además no debemos olvidar que las células inmunes, como los linfocitos y monocitos desempeñan un papel crucial en el desarrollo de la lesión aterosclerótica¹⁷ debido a su papel en el desarrollo de la inflamación (la producción de citoquinas), disfunción endotelial (molécula de adhesión endotelio producción) y las enfermedades cardiovasculares. También se ha descrito su influencia en la alteración de la función de las células Beta del islote pancreático, resistencia a la insulina y disfunción endotelial¹⁸. Por otra parte la resistencia a la insulina y la obesidad parecen activar las células inmunes y aumentan la expresión de muchas citoquinas¹⁹. Es de destacar que estas células inmunes no son tejidos solamente expuestos a la resistencia a la insulina y relacionados con las enfermedades cardiovasculares, como sucede con el tejido adiposo, hígado, y el endotelio, sino que también interacciona con ellos²⁰. Por todo lo previamente citado, el uso de las modificaciones en la expresión génica en las CMNS podría ser un modelo que permita evaluar los estudios de intervención dietética con el objetivo de comprender los mecanismos subyacentes e influencia de la dieta y los nutrientes en la aterosclerosis, resistencia a la insulina, obesidad y diabetes mellitus tipo 2. A continuación revisaremos los estudios nutricionales de la literatura que han utilizado la evaluación de la expresión génica de las células mononucleares sanguíneas como una estrategia para aumentar nuestro conocimiento en nutrigenómica.

Intervención dietética y metabolismo del colesterol (expresión RNAm en CMNS)

Las (CMNS) y las células hepáticas parecen compartir similitudes en términos de la homeostasis del colesterol. Por lo tanto, las células inmunes pueden ser un modelo útil para evaluar el metabolismo lipídico hepático²¹. En este área de trabajo tenemos estudios que han evaluado el efecto de la reintroducción de colesterol de la dieta después de una restricción grasa dietética sobre la expresión de RNAm de genes

relacionados con la homeostasis del colesterol utilizando CMNS. Estos trabajos han demostrado que la restricción de grasa y la posterior reintroducción de colesterol en la dieta dieron lugar a cambios en las expresiones de RNAm del receptor de LDL (LDLR), reductasa 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMGCR), la proteína del receptor de LDL (LRP) y etanol-inducible CYP2E1²². De este modo se sugirió que el LRP, que se modificó de forma paralela con los niveles de colesterol total y HDL en suero después de reintroducir el colesterol de la dieta, puede participar en el control de la síntesis de colesterol. Por último, la expresión del RNAm CYP2E1 en las CMNS reflejaría la respuesta de la expresión hepática a la dieta. En otro trabajo con sujetos obesos con una dieta baja en carbohidratos se detectó una regulación a la baja en estos genes que regulan homeostasis del colesterol (HMGCR y LDLR) en CMNS. Sin embargo la restricción en la dieta colesterol aumentó sus niveles de expresión⁴. Sin embargo, no se detectaron cambios en los niveles de colesterol total y LDL colesterol séricos. Existen más trabajos que han demostrado resultados positivos en la respuesta del nivel de RNAm de los genes relacionados con el metabolismo del colesterol usando CMNS como un tejido sustituto de células hepáticas^{2,23}. Por ejemplo, evaluando diferentes modificaciones dietéticas, como puede ser el aumento de los carbohidratos en la dieta durante 3 semanas² o la reducción de peso mediante una dieta hipocalórica junto a actividad física, y un suplemento de carnitina durante 10 semanas²³. Los resultados mostraron una mejoría en el perfil lipídico, glucemia, insulinemia y una mayor expresión HMGCR, en el primer trabajo² y en el segundo trabajo; un 5% de pérdida de peso y una disminución en el colesterol total, LDL colesterol, triglicéridos e insulinemia con una aumento de la expresión de LDLR²³.

En el área de la modificación en la ingesta dietética de grasas también existen trabajos que han evaluado los efectos de una dosis baja de ácidos grasos polinsaturados, polifenoles, y suplementos de L-carnitina en la expresión de RNAm de genes implicados en el metabolismo lipídico²⁴. Tras 12 semanas de intervención se detectó una disminución de los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres y triglicéridos, con una sobre-regulación de PPAR y otros genes implicados en la oxidación de ácidos grasos libres (CPT1A: carnitina palmitoiltransferasa 1A y CPT1B: palmitoiltransferasa carnitina 1B). Estos hallazgos fueron similares a los encontrados en una línea celular hepática (células HepG2), apoyando por tanto el uso de CMNS como sustituto de las células hepáticas para el estudio de este metabolismo.

Intervención dietética en la ingesta de las grasas (expresión RNAm en CMNS)

En este área de trabajo los estudios se centran en comprender mejor los mecanismos subyacentes del

efecto beneficioso de los ácidos grasos omega 3 (w3) sobre la inflamación y aterosclerosis, evaluando la respuesta a través de la expresión génica de CMNS^{25,26}. En el primer trabajo²⁵, se demostró por primera vez que los w3 de la dieta podrían influir en la expresión de RNAm in vivo en CMNS. Los efectos fueron una reducción de los niveles de RNAm del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). En el otro trabajo²⁶, además de las modificaciones en la expresión de PDGF _ Polipéptido A (PDGFA) y PDGF-_ polipéptido B (PDFGB), también disminuyó la expresión del gen que codifica para la proteína quimiotáctica de monocitos de quimioquinas 1 (MCP-1). En otro estudio, con el uso de suplementos de aceite de pescado, se demostró que esta suplementación puede alterar la expresión génica en los niveles de RNAm en CMNS a un perfil más antiinflamatorio y antiaterogénico⁴². De este modo, los genes que juegan un papel en la formación de la placa aterosclerótica y estabilidad de la placa mejoraron su expresión tras la suplementación con EPA y DHA. Al utilizar técnicas de PCR cuantitativa, los autores observaron una relación dosis-respuesta en la expresión de genes que afectaba a la mayor parte de las vías que demostraron ser moduladas por la administración de suplementos de aceite de pescado. Otro trabajo ha evaluado²⁸ los efectos de los cambios en la relación de ácidos grasos polinsaturados w-6/w3 de la dieta sobre los genes relacionados con la transducción temprana de los metabolitos de w-3 y genes que codifican citocinas y quimiocinas. En este trabajo²⁸, tras 4 semanas de intervención con una disminución de la relación de la dieta n-6 / n-3, se detectó una reducción de los leucotrienos producidos en los leucocitos. Junto con estos hallazgos, esta suplementación produjo una regulación en la expresión de RNAm de las CMNS de los genes de IL23, IL10, y fosfatidilinositol 3-quinasa _ (PI3K_). Estos resultados indican un papel de la ingesta de w-3 en la modulación de respuestas autoinmunes y antiinflamatorias. Además, estos trabajos proporcionan cierta evidencia de que los cambios en la expresión génica es un probable mecanismo por el cual PUFA ejercen sus efectos clínicos. En este área de investigación también se han evaluado el efecto del consumo de aceite de oliva virgen rico en compuestos fenólicos y ácidos grasos monoinsaturados sobre los factores de riesgo cardiovasculares. Varios estudios en el contexto de una dieta mediterránea rica en aceite de oliva han evaluado el efecto sobre la expresión génica en los niveles de mRNA en CMNS²⁹⁻³⁰. Este último trabajo³⁰ mostró que la adición de 25 mL al día de aceite de oliva aumenta la expresión de genes implicados en el sistema de reparación del ADN, genes antiapoptóticos, genes implicados en anti oxidación, proteína de unión a PPAR-y ADAM metalopeptidasa dominio 17 (ADAM17). Por otra parte, frente a la dieta control, la dieta mediterránea rica en aceite de oliva disminuye la expresión de genes relacionadas con el proceso de inflamación (IFN-gamma y ARHGAP15: Rho GTPasa activación de la proteína 15) y el estrés oxidativo

(ADRB2: receptor adrenérgico tipo 2 de superficie). Además, esta intervención también redujo los niveles de colesterol LDL y proteína C reactiva. Los resultados derivados de estos estudios²⁹⁻³⁰ han sido relevantes al demostrar que la dieta mediterránea puede ejercer sus efectos antiaterogénicos, no solo mejorando factores de riesgo cardiovascular clásicos (lípidos, resistencia a la insulina, etc), sino también en parte a través de sus efectos sobre la expresión génica.

Intervención dietética centrada en antioxidantes y propiedades antiinflamatorias (expresión RNAm en CMNS)

Otra gran área de interés es el estudio de los mecanismos que explican los efectos beneficiosos de los alimentos con capacidad antioxidante, por ejemplo frutas y verduras, en la salud y la relación con el estrés oxidativo. La variedad de nutrientes que presentan estos alimentos y la dificultad en el diseño de los estudios hace que los trabajos sean escasos. Uno de los escasos trabajos que evalúan estos antioxidantes sobre la expresión génica en CMNS utilizó extractos de uva (162 mg por día) en combinación con otras fuentes de polifenoles con propiedades antioxidantes, ácidos grasos w-3 PUFA y L-carnitina²⁴ o el aceite virgen de oliva²⁹. También se ha evaluado el efecto de enriquecer la dieta con soja³¹, mostrando una disminución de la expresión del gen que codifica nicotinamida fosforribosiltransferasa o “visfatina” (NAMPT). Además, los análisis mostraron una reducción en la expresión de mRNA de los genes implicados en la fagocitosis y en las interacciones de los receptores de citoquinas. En otro trabajo se ha utilizado como intervención una “dieta antiinflamatoria” que consistió en una combinación de polifenoles y antioxidantes, estudiando la expresión génica en CMNS y células del tejido adiposo³². Los investigadores observaron que el efecto antiinflamatorio y antioxidante se reflejó en las CMNS con modificaciones en la expresión de los genes relacionados con la respuesta inmunoinflamatoria y la diferenciación de las células de la sangre (IGHD: inmunoglobulina delta constante pesada, MYOM1: myomesin 1, IGHV3-47: inmunoglobulina pesada variable 3-47, y la IL12A, IL4R: receptor de IL-4, CCL21), y al estrés oxidativo (LACTB: lactamasa). Los efectos beneficiosos de esta dieta también se observaron en la formación de placa de ateroma y en el metabolismo de los lípidos, mediante expresión de RNAm en CMNS. Los autores señalaron que este estudio puede ser considerado, sin embargo, como una prueba de concepto.

Intervención dietética centrada en la pérdida de peso (expresión RNAm en CMNS)

El último área de interés es la evaluación de la modificación de RNAm en términos de pérdida de peso con

modificaciones dietéticas. El sobrepeso y la obesidad aumentan sustancialmente el riesgo de morbilidad de hipertensión, dislipemia, y diabetes mellitus. La pérdida de peso es también una estrategia para el tratamiento de estos factores de riesgo metabólico³³. Los estudios que utilizan la estrategia de análisis de expresión en CMNS como alternativa al análisis de células del tejido adiposo son escasos³⁴⁻³⁶. En un trabajo realizado en 9 obesos sin comorbilidades asociadas³⁴ durante 8 semanas y una pérdida de peso de aproximadamente 9%. Los autores observaron una disminución en la expresión de RNAm de genes implicados en el proceso de estrés oxidativo y la inflamación. Este estudio fue el pionero en la evaluación de microarray de CMNS para detectar cambios moleculares después de una pérdida de peso inducida por dieta en sujetos con obesidad. En otra intervención dietética, la restricción calórica también aumentó la expresión de dos genes específicos que codifican las sirtuinas (SIRT1 y SIRT2)³⁵. Junto con los cambios en los niveles de expresión de genes, la restricción calórica también produjo un 6% reducción en el peso corporal y disminución del colesterol total en la sangre. En este estudio, los CMNS también se utilizaron como una alternativa a las células de músculo esquelético. En otro trabajo con diseño similar³⁶, 21 voluntarios que se sometieron a una dieta baja en calorías durante un período de 12 semanas perdieron un 5% de su peso corporal inicial y también se detectó una disminución de alrededor del 30% en la expresión de RNAm de los marcadores proinflamatorios (TNF: factor de necrosis tumoral, IL6, FOMIN: la migración de macrófagos factor inhibidor, y MMP9: metalopeptidasa matriz 9) en CMNS. Por otra parte, los marcadores clásicos de riesgo cardiovascular también mejoraron; niveles de insulina y glucosa, un mejor perfil de lipídico, así como proteína C reactiva.

Un paso más allá se ha dado con un trabajo en el que se ha evaluado una población de pacientes obesos con síndrome metabólico y metabolismo anormal de la glucosa³⁷. En este estudio, el objetivo de intervención fue una disminución de la ingesta de energía de 500 calorías al día durante 9 meses con una pérdida de peso del 5%. En este estudio, la expresión de mRNA de los genes marcadores proinflamatorios IL1_β (IL1B) y TNF respondió de manera diferente entre la reducción de peso y los grupos de control. Por último, nuestro grupo³⁸ ha demostrado en una muestra de 17 obesos sin síndrome metabólico que una intervención dietética con pérdidas del 5% del peso produce un aumento en la regulación de más de 1248 genes y una disminución de la expresión de 168 genes a nivel de CMNS, afectando a 13 categorías diferentes de genes que pueden agruparse en dos, “metabolismo” y “función celular”. En el conjunto de genes de la función celular, los genes más importantes fueron la proteína C-terminal región of Nel-like molecule 1 (NELL1) y el factor derivado del epitelio de pigmento (SPEDF), ambos genes se sobre expresaron. En el conjunto de genes del metabolismo, el factor de crecimiento insu-

línico tipo 1 (IGF1), ApoA5 (apolipoproteína subtipo 5), PIKFYVE (PtdIns³ P 5-kinase) y AQP7 (acuaporina canal proteínas 7) se sobreexpresaron. Por otra parte, FOXO4 (factor de transcripción Forkhead 4), AdipoR1 (receptor de adiponectina tipo 1) y ROCK-2 (Rho-quinasa II) se infra expresaron.

Conclusiones

Para analizar los efectos biológicos de las intervenciones dietéticas en diferentes poblaciones de pacientes de riesgo, la evaluación de la expresión de RNAm en CMNA se ha mostrado útil para evaluar la expresión génica. Los trabajos se han desarrollado en el ámbito de la modificación del aporte de colesterol de la dieta, grasas, y antioxidantes, así como en la reducción del aporte calórico para disminuir el peso. Estos hallazgos moleculares afianzan el conocimiento sobre la respuesta de nuestro organismo a la dieta y abren la posibilidad del análisis rápido de nuevas vías diagnósticas en este área de conocimiento e incluso de nuevas herramientas terapéuticas³⁹⁻⁴¹.

Referencias

- Vidon, C., Boucher, P., Cachefo, A., Peroni, O. et al. Effects of isoenergetic high-carbohydrate compared with high-fat diets on human cholesterol synthesis and expression of key regulatory genes of cholesterol metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, 73, 878–884
- Auboeuf, D., Vidal, H., The use of the reverse transcription competitive polymerase chain reaction to investigate the in vivo regulation of gene expression in small tissue samples. *Anal. Biochem.* 1997, 245, 141–148.
- Mutungi, G., Torres-Gonzalez, M., McGrane, M. M., Volek, J. S., Fernandez, M. L., Carbohydrate restriction and dietary cholesterol modulate the expression of HMG-CoA reductase and the LDL receptor in mononuclear cells from adult men. *Lipids Health Dis.* 2007, 6, 34.
- Moody, D. E., Genomics techniques: an overview of methods for the study of gene expression. *J. Anim. Sci.* 2001, 79, E128–E135.
- Wittwer, J., Rubio-Aliaga, I., Hoeft, B., Bendik, I. et al., Nutri-genomics in human intervention studies: current status, lessons learned and future perspectives. *Mol. Nutr. Food Res.* 2011, 55, 341–358.
- Kallio, P., Kolehmainen, M., Laaksonen, D. E., Kekalainen, J. et al., Dietary carbohydrate modification induces alterations in gene expression in abdominal subcutaneous adipose tissue in persons with the metabolic syndrome: the FUNGENUT study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2007, 85, 1417–1427.
- Muller, M., Kersten, S., Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat. Rev. Genet.* 2003, 4, 315–322.
- Graham, I., Atar, D., Borch-Johnsen, K., Boysen, G. et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary: Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur. Heart J.* 2007, 28, 2375–2414.
- DA de Luis, R Aller, O Izaola, D Pacheco. Role of rs9939609F-TO gene variant in weight loss, insulin resistance and metabolic parameters after high monounsaturated vs a high polyunsaturated fat hypocaloric diets. *Nutr Hosp* 2015; 32:175-181FI
- DA de Luis, G Diaz, O Izaola, E Romero. Evaluation of weight loss and metabolic changes in diabetic patients treated with liraglutide, effect of RS 6923761 gene variant of GLP-1 receptor. *J of Diabetic and its complications* 2015;29:595-598
- DA de Luis, D Pacheco, R Aller, O Izaola. Role of the rs6923761 Gene Variant in Glucagon-Like Peptide 1 Receptor Gene on Cardiovascular Risk Factors and Weight Loss after Biliopancreatic Diversion Surgery . *Ann Nutr Metab* 2014;65:259–263
- DA de Luis, M Gonzalez, R Conde, R Aller, O izaola, D Primo. Lack of association of serum resistin levels with metabolic syndrome criteria in obese female patients. *Clinical Biochemistry* 2011;44:1280-1283
- de Luis DA, Izaola O, Conde R, Primo D, Goznalez M, Aller R. Visfatin levels in femal, morbid, nondiabetic obese patients after biliopancreatic diversion surgery. *Surgery for Obesity and Related diseases* 2011;7:195-198.
- Izaola O, de Luis DA, Sajoux I, Domingo JC, Vidal M. Inflamacion y obesidad *Nutr Hosp* 2015; 31:2352-2358
- Ziegler-Heitbrock, H. W., Definition of human blood monocytes. *J. Leukoc. Biol.* 2000, 67, 603–606.
- Fuchs, D., Piller, R., Linseisen, J., Daniel, H. et al., The human peripheral blood mononuclear cell proteome responds to a dietary flaxseed-intervention and proteins identified suggest a protective effect in atherosclerosis. *Proteomics* 2007, 7, 3278–3288.
- Libby, P., Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006, 83, 456S–460S.
- Donath, M. Y., Shoelson, S. E., Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2011, 11, 98–107.
- Ghanim, H., Aljada, A., Daoud, N., Deopurkar, R. et al. Role of inflammatory mediators in the suppression of insulin receptor phosphorylation in circulating mononuclear cells of obese subjects. *Diabetologia* 2007, 50, 278–285.
- Hotamisligil, G. S., Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006, 444, 860–867
- Bouwens, M., Afman, L. A., Muller, M., Fasting induces changes in peripheral blood mononuclear cell gene expression profiles related to increases in fatty acid beta-oxidation: functional role of peroxisome proliferator activated receptor alpha in human peripheral blood mononuclear cells. *Am. J. Clin. Nutr.* 2007, 86, 1515–1523.
- Boucher, P., Seree, E., Vidon, C., de Souza, A. C. et al., Dietary lipids affect human ethanol-inducible CYP2E1 gene expression in vivo in mononuclear cells. *Life Sci.* 2000, 67, 1307–1316.
- Patalay, M., Lofgren, I. E., Freake, H. C., Koo, S. I. et al. The lowering of plasma lipids following a weight reduction program is related to increased expression of the LDL receptor and lipoprotein lipase. *J. Nutr.* 2005, 135, 735–739.
- Radler, U., Stangl, H., Lechner, S., Lienbacher, G. et al. A combination of (omega-3) polyunsaturated fatty acids, polyphenols and L-carnitine reduces the plasma lipid levels and increases the expression of genes involved in fatty acid oxidation in human peripheral blood mononuclear cells and HepG2 cells. *Ann. Nutr. Metab.* 2011, 58, 133–140.
- Kaminski, W. E., Jendraschak, E., Kiefl, R., von Schacky, C., Dietary omega-3 fatty acids lower levels of platelet-derived growth factor mRNA in human mononuclear cells. *Blood* 1993, 81, 1871–1879.
- Baumann, K. H., Hessel, F., Larass, I., Muller, T. et al., Dietary omega-3, omega-6, and omega-9 unsaturated fatty acids and growth factor and cytokine gene expression in unstimulated and stimulated monocytes. A randomized volunteer study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999, 19, 59–66.
- Bouwens, M., van de Rest, O., Dellschaft, N., Bromhaar, M. G. et al., Fish-oil supplementation induces anti-inflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. *Am. J. Clin. Nutr.* 2009, 90, 415–424
- Weaver, K. L., Ivester, P., Seeds, M., Case, L. D. et al., Effect of dietary fatty acids on inflammatory gene expression in healthy humans. *J. Biol. Chem.* 2009, 284, 15400–15407.

29. Konstantinidou, V., Covas, M. I., Munoz-Aguayo, D., Khymentets, O. et al., In vivo nutrigenomic effects of virgin olive oil polyphenols within the frame of the Mediterranean diet: a randomized controlled trial. *FASEB J.* 2010, *24*, 2546–2557.
30. Khymentets, O., Fito, M., Covas, M. I., Farre, M. et al. Mononuclear cell transcriptome response after sustained virgin olive oil consumption in humans: an exploratory nutrigenomics study. *OMICS* 2009, *13*, 7–19.
31. Radler U, Stangl H, Lechner S, Lienbacher G. A combination of omega3 polyunsaturated fatty acids, polyphenols and L carnitine reduces the plasma lipid levels and increases the expression of genes involved in fatty acid oxidation in human peripheral blood mononuclear cells and HepG2 cells. *Ann Metab* 2011, *58*: 133-140.
32. Wang, J., Siegmund, K., Tseng, C. C., Lee, A. S. et al. Soy food supplementation, dietary fat reduction and peripheral blood gene expression in postmenopausal women—a randomized, controlled trial. *Mol. Nutr. Food. Res.* 2011, *55* (Suppl 2), S264–S277.
33. Bakker, G. C., van Erk, M. J., Pellis, L., Wopereis, S. et al. An antiinflammatory dietary mix modulates inflammation and oxidative and metabolic stress in overweight men: a nutrigenomics approach. *Am. J. Clin. Nutr.* 2010, *91*, 1044–1059.
34. World Health Organisation, *Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series, 894*, World Health Organisation, Geneva, Switzerland 2000.
35. Crujeiras, A. B., Parra, D., Milagro, F. I., Goyenechea, E. et al., Differential expression of oxidative stress and inflammation related genes in peripheral blood mononuclear cells in response to a low-calorie diet: a nutrigenomics study. *OMICS* 2008, *12*, 251–261.
36. Crujeiras, A. B., Parra, D., Goyenechea, E., Martinez, J. A., Sirtuin gene expression in human mononuclear cells is modulated by caloric restriction. *Eur. J. Clin. Invest.* 2008, *38*, 672–678.
37. Sheu, W. H., Chang, T. M., Lee, W. J., Ou, H. C. et al., Effect of weight loss on proinflammatory state of mononuclear cells in obese women. *Obesity (Silver Spring)* 2008, *16*, 1033–1038.
38. Mager, U., Kolehmainen, M., de Mello, V. D., Schwab, U. et al., Expression of ghrelin gene in peripheral blood mononuclear cells and plasma ghrelin concentrations in patients with metabolic syndrome. *Eur. J. Endocrinol.* 2008, *158*, 499–510.
39. Da de Luis, R Aller, O Izaola, E Romero Peripheral blood gene expression profiles in obese subjects with out metabolic syndrome. *Diabetes* 2015; *64*:s1 a573.
40. Palou A, Bonet ML. Challenges in obesity research. *Nutr Hosp.* 2013 Sep; *28* Suppl 5:144-53.
41. Ordovás Muñoz JM. Predictors of obesity: the “power” of the omics. *Nutr Hosp.* 2013 Sep; *28* Suppl 5:63-71.
42. Marti A, Moreno-Aliaga MJ, Zulet A, Martínez JA. [Advances in molecular nutrition: nutrigenomics and/or nutrigenetics]. *Nutr Hosp.* 2005 May-Jun; *20*(3):157-64.