

Artículo de Revisión / Review Article

Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos

Phytochemicals: a new class of prebiotics

RESUMEN

La microbiota intestinal (MI) es considerada como un nuevo blanco para la prevención y manejo nutricional de las alteraciones inflamatorias y metabólicas asociadas a las enfermedades crónicas no-transmisibles. Los prebióticos son principalmente fibras solubles cuyo consumo favorece el crecimiento de poblaciones bacterianas beneficiosas de la MI e impacta favorablemente la salud del consumidor. Esta revisión presenta a los fitoquímicos dietarios, que incluyen a más de 8.000 compuestos, como una nueva clase de prebióticos debido a su capacidad de estimular poblaciones de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Akkermansia* y de bacterias productoras de butirato en el colon, a expensa de bacterias potencialmente dañinas como *C. histolyticum*. Además, los fitoquímicos son transformados por la MI en múltiples metabolitos que ejercen actividades biológicas a veces más potentes que la molécula inicial de la cual provienen. Individuos con distintos metabotipos han sido descritos de acuerdo a su capacidad de responder al consumo de isoflavonas, lignanos o elagitaninos, dependiendo de la presencia en su MI de bacterias capaces de transformar dichos polifenoles en equol, enterolactona/enterodiol y urolitinas, respectivamente, los cuales exhiben actividades biológicas. Valerolactonas y ácidos aromáticos también son producidos por la MI a través del metabolismo de las proantocianidinas. El efecto prebiótico de los fitoquímicos contribuiría a explicar los efectos saludables del consumo de frutas y verduras ricos en fitoquímicos.

Palabras clave: Disbiosis; Enfermedades crónicas no transmisibles; Fitoquímicos; Metabolitos bacterianos bioactivos; Microbiota intestinal; Prebióticos; Polifenoles.

ABSTRACT

Intestinal microbiota (IM) is considered as a new target for the prevention and nutritional management of inflammatory and metabolic alterations associated with non-transmissible chronic diseases. Prebiotics are mainly soluble fibers whose consumption favors the growth of beneficial bacterial populations of the IM and positively impacts health. This review discusses dietary phytochemicals, which include more than 8,000 compounds, as a new class of prebiotics

Naschla Gasaly^{1,2,*}, Karla Riveros², Martín Gotteland^{1,2}.

-
1. Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
 2. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, Chile.

*Dirigir correspondencia a: Naschla Gasaly
 Depto. de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Independencia #1027, Independencia, Santiago.
 E-mail: naschlagasalyretamal@gmail.com

Este trabajo fue recibido el 18 de junio de 2019.
 Aceptado con modificaciones: 05 de septiembre de 2019.
 Aceptado para ser publicado: 20 de noviembre de 2019.

due to its ability to stimulate populations of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Akkermansia* and butyrate producing bacteria in the colon at the expense of potentially harmful bacteria, such as *C. histolyticum*. In addition, phytochemicals are transformed by IM into a great array of metabolites exerting biological activities and are sometimes more potent than the initial molecule from which they are derived. Individuals with different metabotypes have been described according to their ability to respond to the consumption of isoflavones, lignans or ellagitannins, depending on the presence in their IM of bacteria capable of transforming these polyphenols into equol, enterolactone/enterodiol and urolithins, respectively, which exhibit biological activities. Valerolactones and aromatic acids are also produced by

the IM through proanthocyanidin metabolism. The prebiotic effect of phytochemicals would help to explain the healthy effects associated with the consumption of fruits and vegetables rich in phytochemicals.

Keywords: Bioactive bacterial metabolites; Dysbiosis; Gut Microbiota; Noncommunicable diseases; Phytochemicals; Polyphenols; Prebiotics.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ENTs) son la principal causa de muerte (68%) en el mundo. En Chile, se estima que sólo el 5% de la población mantiene una alimentación saludable y que las ENTs asociadas a los malos hábitos alimenticios y el sedentarismo son responsables del 15,9% del gasto público y del 36% del gasto catastrófico en salud¹. Por lo tanto, existe gran interés en desarrollar nuevas estrategias para prevenir el desarrollo de estas enfermedades y reducir su impacto socioeconómico, entre otros, a través del desarrollo de nuevos alimentos más saludables.

En la última década, la microbiota intestinal (MI) ha ido apareciendo como un nuevo foco de interés para la prevención y manejo nutricional de las ENTs². El ser humano es considerado como un super-organismo u holobionte, que resulta de su asociación con los innumerables microorganismos (bacterias, archaea, hongos, virus, fagos) que alberga en su tubo digestivo, con los cuales convive en una estrecha relación mutualista. El componente bacteriano de esta MI es dominado por los filos Bacteroidetes y Firmicutes, que representan más del 90% del total de las bacterias presentes, e incluye también a otros filos subdominantes como Proteobacteria, Actinobacteria o Verrucomicrobia^{3,4}. La MI modula múltiples aspectos de la fisiología humana, siendo particularmente vinculada con el epitelio intestinal (función de barrera) y el sistema inmune del huésped. Estos tres factores en conjunto determinan la homeostasia del ecosistema digestivo. Cambios en la composición y diversidad de la MI (disbiosis) repercuten rápidamente en el buen funcionamiento de este sistema, favoreciendo la aparición de fenómenos inflamatorios y alteraciones metabólicas que contribuyen al desarrollo de ENTs y otras patologías^{2,3}.

La dieta es el principal regulador de la MI, aunque otros factores como el consumo voluntario o involuntario de xenobióticos, los antecedentes genéticos del huésped, su actividad física y estilo de vida (occidentalizado o ancestral) también la influncian⁴. El consumo regular de alimentos o dietas no saludables favorece el desarrollo de disbiosis y posteriormente de ENTs, mientras que el consumo de componentes reguladores como prebióticos, probióticos o fitoquímicos mantiene el equilibrio de la microbiota. La MI por lo tanto, es un blanco nutricional y terapéutico de importancia para prevenir la aparición de desórdenes metabólicos y sus complicaciones^{2,4}.

El principal substrato energético para las bacterias de la MI es la fibra dietética soluble, que incluye el almidón resistente, polisacáridos no-almidón (como la inulina), distintos tipos de oligosacáridos y azúcares alcohol, tanto naturales

como sintéticos. La fermentación de estos compuestos genera ácidos grasos volátiles (AGVs) que pueden estimular receptores específicos (GpR41, GpR43) ubicados en numerosos tejidos y órganos del cuerpo^{2,5}. Los AGVs son responsables de la gran mayoría de los efectos fisiológicos beneficiosos asociados a la MI, particularmente frente al desarrollo de ENTs. Diversos estudios recientes han mostrado que los fitoquímicos, a pesar de ser consumidos en menor cantidad que la fibra dietética, también impactan la MI, generando metabolitos con actividades biológicas potencialmente interesantes para la salud del ser humano.

El trabajo desarrollado a continuación expone evidencia científica actualizada y de los últimos 25 años desde la base de datos de biomedicina del Instituto Nacional de la Salud de los Estados Unidos (NCBI, US). Las búsquedas fueron realizadas en el idioma inglés, utilizando las palabras clave: *Gut Microbiota; Prebiotics; Phytochemicals; Polyphenols; Dysbiosis; Bioactive Bacterial Metabolites; Noncommunicable Diseases*. El objetivo de esta revisión es actualizar el conocimiento respecto de las interacciones entre MI y fitoquímicos dietarios y su eventual implicancia para la salud, con el fin de comprender cómo los fenómenos de digestión y fermentación conducen a la absorción de metabolitos con actividad biológica relevante que respalda algunos efectos beneficiosos descritos en estudios celulares, ensayos pre-clínicos y ensayos clínicos.

Los fitoquímicos dietarios en el intestino

Los fitoquímicos corresponden a metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, que incluyen terpenos, ácidos fenólicos y tiólicos, lignanos y flavanoides, siendo estos últimos los más relevantes en términos cuali-cuantitativos (Figura 1). Son responsables de proteger a las plantas frente a distintos tipos de estrés, tanto biótico como abiótico, incluyendo infecciones, depredadores, radiación ultravioleta, estrés hídrico o salino, además de entregarles colores y sabores a frutas y verduras. Se estima que existen miles de fitoquímicos distintos en la naturaleza, la mayoría aún por descubrir. Los antropólogos sugieren que nuestros ancestros cazadores-recolectores del paleolítico consumían 200-400 especies distintas de plantas, con un aporte elevado de fibra, estimado en 80-100g/d, y de 2-8g/d de fitoquímicos⁶. Desgraciadamente, el ser humano del siglo XXI, consume una elevada cantidad de alimentos ultra-procesados, frente a una diversidad y cantidad cada vez menor de vegetales (entre 20-40 especies distintas), cuyos aportes de fitoquímicos son claramente inferiores, entre 0,5-2g/d⁶. Estos hallazgos son relevantes, considerando que una relación inversa entre consumo de vegetales ricos en fitoquímicos y riesgo de ENTs ha sido reportada por numerosos estudios epidemiológicos^{2,4}. Este efecto protector se debería a propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias, antibacterianas, anti-hipertensivas, anti-tumorales, reguladoras de la función mitocondrial, neutralizante de LPS, etc., de estos compuestos, que atenuarían el desarrollo de alteraciones inflamatorias y metabólicas en el individuo². Por esta razón, los fitoquímicos son actualmente considerados como no-

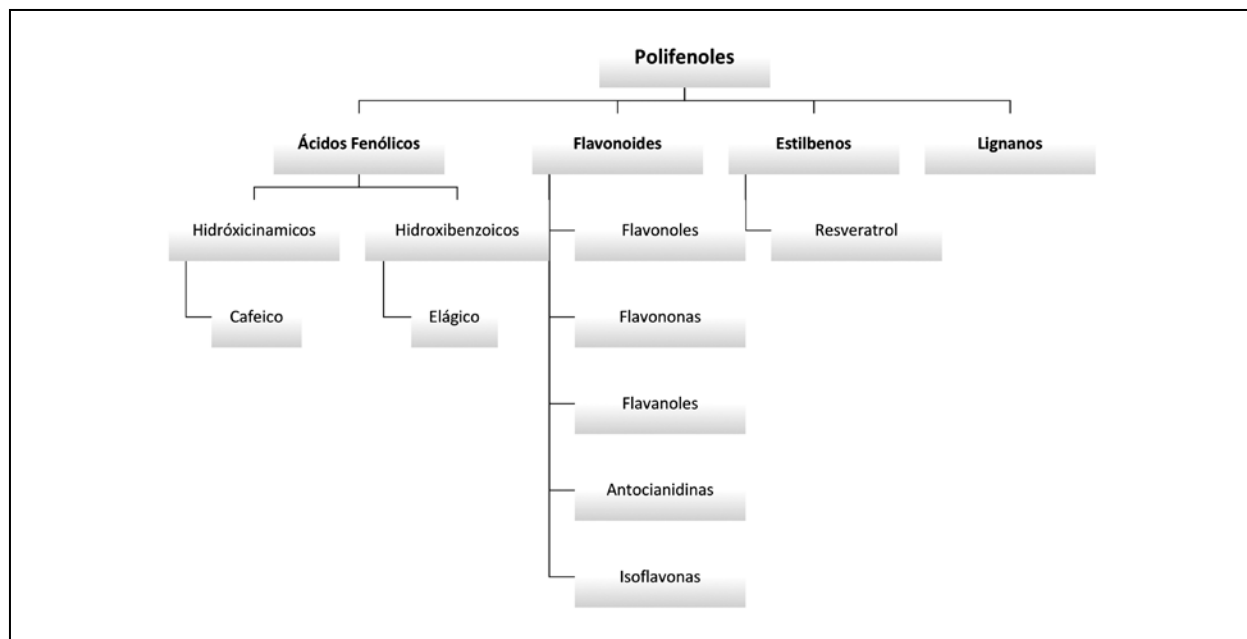


Figura 1: Clasificación de los polifenoles.

nutrientes beneficiosos para la salud y se recomienda el consumo regular y abundante de vegetales que los contengan en altas concentraciones⁷.

Sin embargo, por su compleja estructura química y gran tamaño (en el caso de formas polimerizadas), la absorción intestinal de fitoquímicos es generalmente escasa, alcanzando concentraciones demasiado bajas en la circulación (del orden del nanomolar) que permitan explicar sus efectos biológicos⁸. Se estima que más del 80% de los fitoquímicos ingeridos no son absorbidos en el intestino delgado y se acumulan en el lumen para luego llegar intactos al colon. Los estudios de Jenner et al., muestran que es posible detectar concentraciones de naringenina y quercetina del orden del micromolar en aguas fecales de voluntarios que consumen una dieta común y corriente⁹ (Tabla 1). El tubo digestivo, por lo tanto, es probablemente el principal órgano donde estos compuestos ejercen sus efectos beneficiosos¹⁰. En un estudio reciente con extractos polifenólicos de palta, uva, cranberry y manzana ricos en proantocianidinas (PACs), unos polímeros de flavan 3-oles, observamos que interfieren *in vitro* con el LPS bacteriano, siendo el extracto de uva el más eficiente¹¹. Posteriormente, demostramos que la administración del extracto de uva acompañado simultáneamente de un desayuno alto en grasa en voluntarios normopeso u obesos, reducía el paso postprandial de LPS a la circulación¹¹. Esta propiedad explicaría el efecto protector del consumo de frutas y verduras ricos en estos compuestos frente al desarrollo de endotoxemia metabólica. A nivel colónico, reportamos que estos extractos previenen las alteraciones inducidas por el p-cresol y el H₂S, compuestos potencialmente

tóxicos provenientes del metabolismo bacteriano de las proteínas, en células intestinales y colónicas en cultivo^{12,13}. Esta característica podría contribuir a reducir el riesgo de cáncer colorectal en los consumidores.

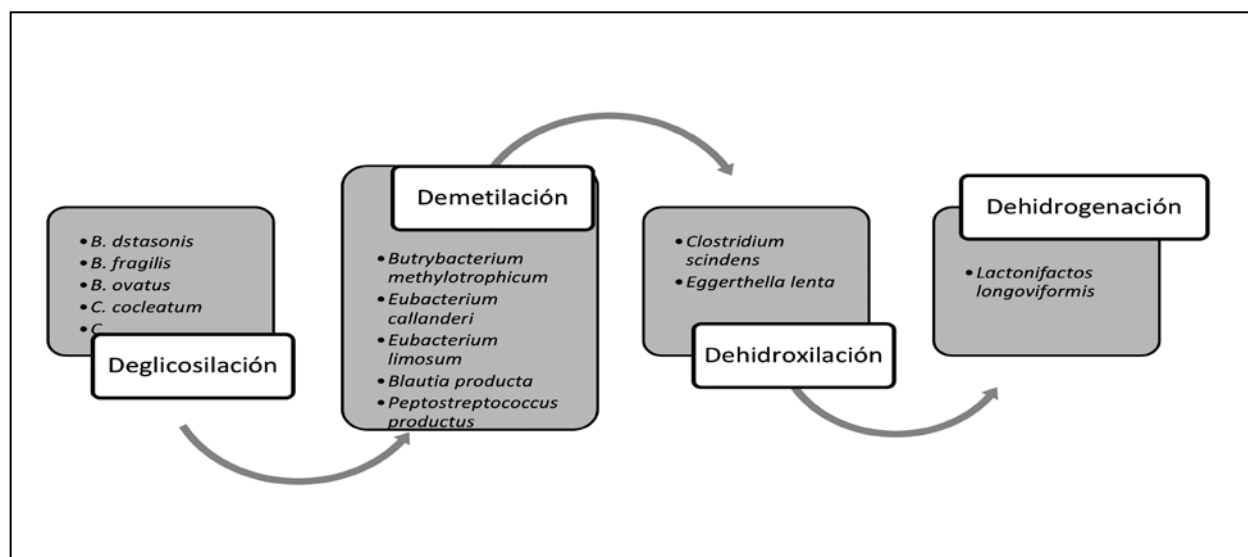
Los fitoquímicos en el colon: efecto modulador de la microbiota

La mayoría de los fitoquímicos, especialmente los flavonoides, se encuentran en los vegetales en formas glicosiladas^{8,9}. Aunque algunos de ellos puedan ser deglicosilados por la lactasa intestinal, la mayoría lo son por bacterias del colon. Los diholosidos y oligosidos liberados por este proceso son rápidamente fermentados, generando AGVs, mientras que la fracción aglicona también es metabolizada por la MI, a través de reacciones que involucran la ruptura del anillo C y fenómenos de hidrólisis, dehidroxilación y demetilación, resultando en la formación de diversos metabolitos⁹.

El metabolismo completo de los fitoquímicos requiere, por lo tanto, de consorcios microbianos específicos que intervienen de acuerdo con las actividades enzimáticas que expresan (Figura 2)⁵. Se estima que hasta el 95% de los polifenoles dietarios que alcanzan el colon son transformados por la MI¹⁴. Los metabolitos generados son detectados en concentraciones micromolares en aguas fecales de individuos sanos con una dieta común⁹ (Tabla 1). Estudios en bioreactores y en animales indican que las abundancias relativas de las poblaciones bacterianas beneficiosas involucradas en estos procesos metabólicos aumentan, mientras otras poblaciones potencialmente dañinas disminuyen.

Tabla 1. Concentraciones de los principales polifenoles y metabolitos bacterianos de polifenoles en agua fecal de voluntarios humanos con dieta común.

Polifenol	Concentración X DE (µM)	Compuesto Fenólico	Concentración X ± DE (µM)
Naringenina	1.20+1.67	Catecol	4.58+4.31
Quercetina	0.630+0.500	Ácido benzoico	51.0+47.1
Catequina	0.140+0.110	Ácido gálico	0.680+0.580
Epicatequina	0.110+0.060	Ácido fenilacético	479+391
Apigenina	0.070+0.100	3-hidroxifenil acético	46.0+45.0
Kampferol	0.050+0.060	4-hidroxifenil acético	18.5+9.5
Resveratrol	0.040+0.050	3-fenilpropiónico	166+174
Daidzeína	0.040+0.040	Ácido caféico	51.8+47.3
Genisteína	0.010+0.010	Ácido ferúlico	4.56+8.16
Hesperetina	0.000+0.010	Ácido isoferúlico	1.84+1.06
Otros	0.140+0.210	Total monofenólicos	318+194
Total Polifenoles	2.67+2.48	Total ácidos aromáticos no fenólicos	614+379

**Figura 2:** Ejemplo de metabolismo microbiano de polifenoles: el lignano secoisolariciresinol diglucósido⁵.

Dichos resultados son confirmados por diversos ensayos clínicos^{15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29} (Tabla 2). Se aprecia que la suplementación dietaria con polifenoles de té verde o negro, café, berries, cacao, vino tinto, manzana, cereales o soya estimula el crecimiento de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, y eventualmente de *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Bacteroides* y de bacterias productoras de butirato como *Faecalibacterium prausnitzii* y *Eubacterium rectale*, reconocidas por ejercer efectos anti-inflamatorios

y reguladores del metabolismo energético. En algunos de estos estudios, las poblaciones potencialmente patógenas de *C. histolyticum*/*C. perfringens*, *Pseudomonas* y de Enterobacteria disminuyen^{15,16,23,24,26,29}. Estos hallazgos llevaron a postular que los fitoquímicos, y particularmente los polifenoles, puedan ser considerados como una nueva clase de prebióticos, los cuales se definen como “compuestos no digeribles en el intestino que, a través de su metabolización por la MI, modulan la composición

Tabla 2. Estudios de intervención en humanos con fitoquímicos dietarios o alimentos ricos en fitoquímicos.

Tratamiento	Nro. de voluntarios	Poblaciones bacterianas aumentadas	Poblaciones bacterianas disminuidas	Ref.
0.4 g té verde en polvo (Sunphenon) 3 veces al día por 4 semanas	8	–	<i>C. perfringens</i> <i>Clostridium</i> spp.	15
0.5 g/día de extracto de semillas de uva rico en proantocianidinas por 6 semanas	9	<i>Bifidobacterium</i> spp	Enterobacteriaceae	16
700 mg de sólidos de té negro 5 veces al día por 21 días	15	–	Bacterias totales	17
100 mg/día de isoflavonas por 2 meses	39	<i>E. coccooides</i> - <i>E. rectale</i> <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Lactobacillus</i> - <i>Enterococcus</i> spp <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	–	18
48 g/día de cereales de trigo de grano entero por 3 semanas	31	<i>Bifidobacterium</i> spp <i>Lactobacillus</i> spp	–	19
3 tazas de café al día por 3 semanas	16	<i>Bifidobacterium</i> spp	–	20
48 g de cereales de maíz de grano entero al día por 3 semanas	32	<i>Bifidobacterium</i> spp	–	21
20 g al día de puré de frambuesa por 4 días	10	–	–	22
2 manzanas al día por 2 semanas	8	<i>Lactobacillus</i> spp <i>Streptococcus</i> spp <i>Enterococcus</i> spp	Enterobacteriaceae Clostridiales lecitinas-positivos - <i>C. perfringens</i> <i>Pseudomonas</i> spp.	23
494 mg/día y 29 mg/día de flavanol de cacao por 4 semanas	22	<i>Bifidobacterium</i> spp <i>Lactobacillus</i> spp	Grupo <i>C. histolyticum</i> / <i>C. perfringens</i>	24
Bebida con 25,0 g de arándanos silvestres por día durante 6 semanas	15	<i>Bifidobacterium</i> spp <i>L. acidophilus</i>	–	25
272 mL de vino tinto al día por 20 días	10	<i>Enterococcus</i> spp <i>Prevotella</i> spp <i>Bacteroides</i> <i>Bifidobacterium</i> spp <i>Bacteroides uniformis</i> <i>Eggerthella lenta</i> <i>Blautia coccooides</i> - <i>E. rectale</i>	<i>Clostridium</i> spp. <i>C. histolyticum</i>	26
1L/d de té verde por 10 días	10	<i>Bifidobacterium</i> spp	–	27
Bebida con 25,0 g de arándanos silvestres 1 vez al día por 6 semanas	15	<i>B. longum</i> subsp. <i>infantis</i>	–	28
Cuantificación de la ingesta de lácteos, frutas, vegetales y cereales con Encuesta de frecuencia de consumo anual	38	<i>Lactobacillus</i>	<i>B. coccooides</i> <i>C. leptum</i>	29

y/o actividad de esta e inducen efectos fisiológicamente beneficiosos para la salud del huésped^{30,31}.

Un microorganismo cuyo crecimiento es interesante de estimular es *Akkermansia muciniphila*. Se trata de una bacteria

perteneciente al filo *Verrucomicrobia*, que vive en la capa de mucus que recubre el epitelio intestinal, y que utiliza mucinas como sustrato, además de estimular su expresión³². Promueve la expresión de proteínas de uniones estrechas, regulando la

función intestinal de barrera, y ejerce efectos anti-inflamatorios. Cabe destacar que su abundancia relativa es menor en sujetos obesos o con diabetes tipo 2, y que el tratamiento con metformina la aumenta. En base a estos resultados, actualmente se está planteando que uno de los mecanismos de acción de este fármaco sería a través de la estimulación de *A. muciniphila*. Recientemente, estudios demostraron que la administración tanto de extractos de uva o cranberry ricos en PACs, como de quercetina, ácido caféico o antraquinonas, estimulaba el crecimiento de poblaciones de *Akkermansia muciniphila* en el intestino de ratones, en asociación con la disminución de alteraciones inflamatorias y metabólicas^{33,34,35}.

Al contrario, la administración de lignano disminuía drásticamente los recuentos de este microorganismo, exacerbando parámetros inflamatorios. En humanos, la administración de extractos de granada ricos en elagitaninos (punicalagina) aumenta la abundancia de *Akkermansia* en sujetos productores de urolitina³⁶; sin embargo, resultados contradictorios fueron reportados por otros grupos. Otras investigaciones que evaluaron el efecto del consumo de bebidas ricas en polifenoles, reportan aumentos de la abundancia de *A. muciniphila* y mejoras en la sensibilidad a la insulina en humanos³⁷.

Los cambios descritos en las poblaciones de bacterias productoras de butirato y de *A. muciniphila* tras el consumo de polifenoles podrían explicar el efecto protector de estos compuestos dietarios frente al desarrollo de síndrome metabólico (SM) y obesidad^{38,39,40}.

Efectos saludables de los polifenoles a través de la formación de metabolitos biológicamente activos

El metabolismo microbiano de los fitoquímicos genera metabolitos bioactivos que determinan algunos de los efectos saludables de las dietas ricas en frutas y verduras. Sin embargo, es importante destacar que existe una variabilidad interindividual importante en este metabolismo, de acuerdo con la composición de la MI. La formación de un metabolito determinado depende de la presencia de la(s) bacteria(s) capaz(es) de producirlo a partir del fitoquímico inicial, es decir del metabotipo del individuo^{41,42}. El rol de los metabotipos en la transformación de los elagitaninos, isoflavonas y lignanos en sus metabolitos bioactivos ha sido particularmente estudiado. El metabolismo bacteriano de estos polifenoles da como resultado la formación de urolitinas, equol y O-desmethilangolensina (O-DMA), y enterodiol y enterolactona, respectivamente, cuyas actividades biológicas son más potentes que las de sus precursores (Figura 3). Por lo tanto, la presencia o ausencia, en la MI de un individuo, de bacterias capaces de formar dichos metabolitos determina si este será respondedor o no-respondedor frente al consumo de estos fitoquímicos⁴³. La heterogeneidad de la respuesta a estos compuestos en la población general explica, por ejemplo, por qué los beneficios de las isoflavonas de soya sobre el sistema cardiovascular aún son controversiales. Respecto a las isoflavonas de soya, la daidzeína puede ser metabolizada hacia O-DMA o equol, que presenta mayor afinidad para los receptores beta de estrógeno que la daidzeína⁴⁴. 30 a 50% de los individuos son productores de equol gracias a la presencia de

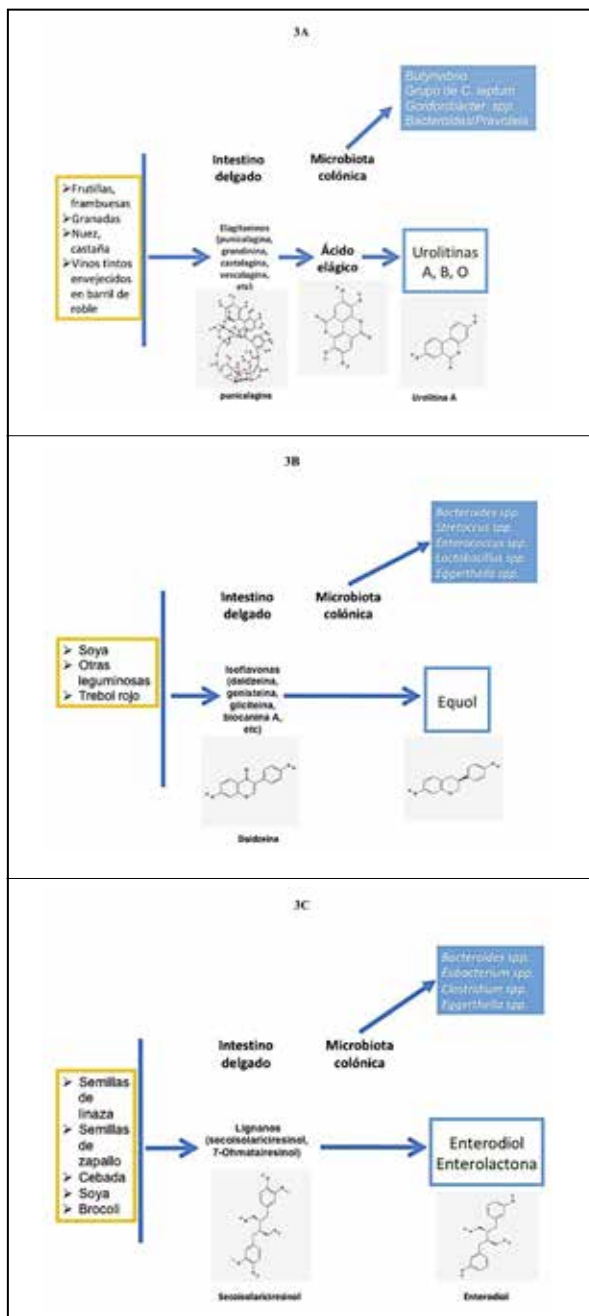


Figura 3: Metabolismo bacteriano de los fitoestrógenos (Elagitaninos, Isoflavonas y Lignanos).

Streptococcus intermedius, *Bacteroides ovatus*, *Ruminococcus productus*, *Eggerthella* sp., *Adlercreutzia equolifaciens*, *Slakia isoflavonicum* y *Slakia equolifaciens* en su MI, mientras que 80 a 90% son productores de O-DMA por contar con bacterias del Cluster XIVa de *Clostridium*. La mejora de la velocidad de onda carótido-femoral, presión sanguínea y función endotelial inducido por el consumo de soya, se observa exclusivamente

en metabolitos productores de equol. La prevalencia de cada metabolito difiere según zonas geográficas y hábitos dietarios. En los países asiáticos donde el consumo de soya es elevado, la mitad de la población es productora de equol, mientras que en países occidentales que consumen menor cantidad de esta oleoleguminosa, sólo el 25 a 30% lo son. Interesantemente, esta proporción es mayor en vegetarianos y menor en sujetos obesos o con SM⁴⁵.

Respecto a los elagitaninos, estos taninos hidrolizables presentes en frutillas, frambuesas, granadas y nueces, pueden ser transformados por *Gordonibacter* en urolitinas, las que exhiben actividad anti-inflamatoria, antioxidante y estrogénica^{43,46,47,48}. Tres metabolitos distintos han sido descritos, de acuerdo con la capacidad de los sujetos de formar urolitinas A, B u O, siendo el metabolito productor de urolitina B más abundante en sujetos con sobrepeso, obesidad y SM^{43,46}. Cabe destacar que la condición de productor/no productor de un metabolito determinado también puede variar en el tiempo de acuerdo con la presencia en la dieta del individuo del fitoquímico del cual proviene. Aumentos en la actividad física también han sido asociados con cambios de metabolito, por ejemplo, del metabolito productor de urolitina B al productor de urolitina A⁴³.

Los lignanos son compuestos polifenólicos que incluyen principalmente al pinosinol y lariciresinol (75% de los aportes de lignanos), además del secoisolariciresinol, matairesinol, hidroximatairesinol, siringaresinol y sesamina. Estos compuestos, pertenecientes a la clase de los fitoestrógenos, se encuentran en concentraciones elevadas en semillas de linaza y sésamo y, en menor cantidad, en el salvado de cereales y crucíferas. El pinosinol puede ser metabolizado por *E. lenta* y especies de *Bacteroides*, *Clostridium*, y *Eubacterium* hacia enterolactona y enterodiol, cuya actividad estrogénica es similar a la del equol^{49,50}. Otra clase de fitoestrógeno recientemente descrita son los prenilflavonoides como el 8-prenilnaringenina que proviene del metabolismo del isoxanthohumol, presente en el lúpulo, por la bacteria *Eubacterium limosum*⁵¹.

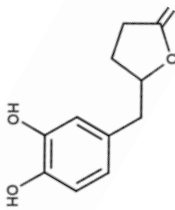
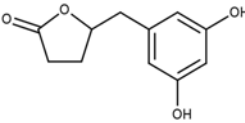
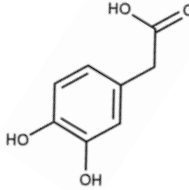
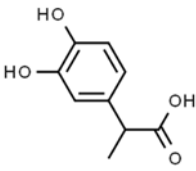
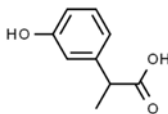
Las PACs, también llamados taninos condensados, son polímeros de flavan 3-oles (catequinas, epicatequinas y sus derivados galoilados) que le dan astringencia a los alimentos que las contienen en concentraciones elevadas, tales como el vino tinto, cacao, jugo de cranberry, canela, piel de frutos secos, etc. En animales, la administración de dietas suplementadas con taninos (2%) aumenta la abundancia de *Enterobacteriaceae*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas* y *B. fragilis*⁵². Estos microorganismos las convierten en metabolitos de las familias de las valerolactonas y ácidos aromáticos, tales como las 5-(3', 4' dihidroxifenil)- γ -valerolactona, 5-(3', 5' dihidroxifenil)- γ -valerolactona y los ácidos 3,4-dihidroxifenil acético, 3,4-dihidroxifenil propiónico, 3-(3-hidroxifenil) propiónico, dihidrocafeico, dihidroferulico, homovanílico y la feruloilglicina (Tabla 3). La presencia de estos metabolitos en concentraciones elevadas ha sido detectada en deposiciones o agua fecal de sujetos sanos que consumían alimentos ricos en PACs⁶⁷.

La transformación de PACs en valerolactonas por bacterias de la MI podría ser afectada por la edad del individuo, ya que es menor en ancianos respecto a sujetos jóvenes, probablemente debido a la disminución progresiva de diversidad microbiana durante el envejecimiento⁶⁸.

Muchos de los metabolitos de los polifenoles producidos en el colon son absorbidos por la mucosa colónica y detectados en la circulación en concentraciones nano- a micromolares⁹. Pueden ejercer actividades biológicas a nivel local o sistémico. Por ejemplo, inhibiendo la actividad ciclooxigenasa-2 (COX-2) en células colonicas y reduciendo la presión arterial en animales^{69,70}. Recientemente, reportamos que los ácidos 4-hidroxifenilacético, 3,4-dihidroxifenil propiónico, y 3-fenilpropiónico protegen monocapas de células intestinales frente a alteraciones de permeabilidad inducidas por p-cresol, un metabolito bacteriano proveniente de la fermentación de aminoácidos por la MI y que actúa como perturbador metabólico de dichas células¹². También demostramos que el ácido 3,4-dihidroxifenilacético, un metabolito bacteriano de quercetina, aumenta la translocación al núcleo del factor de transcripción Nrf2, un regulador de la expresión de enzimas con actividad antioxidante, previniendo el estrés oxidativo, disfunción mitocondrial y apoptosis celular, protegiendo a células β -pancreáticas frente a la alteración de la secreción de insulina inducida por colesterol⁶⁴. Tal como se describe en la tabla 3, los metabolitos bacterianos de las PACs ejercen efectos en varios tipos celulares in vitro, incluyendo pre-adipocitos y adipocitos, células nerviosas, inmunes, endoteliales, musculares, hepáticas, β -pancreáticas y plaquetas. Algunos de estos efectos, también confirmados en animales, incluyen la regulación de la proliferación y diferenciación celular, reducción de fenómenos inflamatorios y neurodegeneración, regulación del metabolismo de la glucosa, de la presión arterial, del estrés oxidativo y agregación plaquetaria. Estas actividades sugieren que estos metabolitos podrían tener propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias e inmunoestimulantes, anti-diabéticas y neuroprotectoras.

Aunque los mecanismos de acción de los metabolitos microbianos de los fitoquímicos no son comprendidos del todo, la evidencia sugiere que una MI saludable influencia su bioactividad. Existe poca información aún sobre sus tasas de absorción y transformación, así como también sobre las concentraciones plasmáticas que alcanzan, su vida media, y las actividades biológicas que ejercen en los tejidos periféricos. Estudios indican que, a pesar de estar presentes en concentraciones bajas en la circulación, algunas células podrían acumularlos, facilitando sus actividades biológicas. Por otra parte, estos metabolitos pueden ser conjugados por las enzimas de fase II, tanto a nivel de las células epiteliales de intestino/colon, como a nivel hepático⁹. Si bien una vez conjugados, estos compuestos están principalmente destinados a excretarse a través de la orina o ser liberados en el intestino por la bilis, algunos estudios indican que también podrían ser almacenados en células de tejidos inflamados como macrófagos, donde serían desconjugados para ejercer sus actividades biológicas⁷¹.

Tabla 3. Metabolitos bacterianos de proantocianidinas y sus actividades biológicas.

Metabolitos bacterianos	Origen	Efectos descritos	Ref.
5-(3',4'-dihidroxifenil)- γ -valerolactona	PAC, Pycnogenol	<p> \searrow Proliferación de preadipocitos 3T3-L1, inhibiendo la activación del complejo CDK2/ciclina O y deteniendo las células en fase G1. \searrow Expresión de PPARγ, C/EBPα, FAsintasa y acetilCoAcarboxilasa \searrow Adipogenesis. Pasa la barrera hematoencefálica y \nearrow Tamaño y número de neuritas en células SH-SY5Y de neuroblastoma humana. \searrow Adhesión de células monocíticas THP-1 a células endoteliales HUVEC inducida por TNFα, reduciendo la expresión de VCAM-1 y MCP-1 y la activación de NFκB. Se acumula en macrófagos, monocitos y células endoteliales. \searrow Producción de nitritos y la expresión de iNOS. \searrow Producción de radicales libres inducida por H₂O₂ en adipocitos pardos diferenciados. </p>	53 54 55 56 57
			
5-(3',5'-dihidroxifenil)- γ -valerolactona	EGCG, PAC	<p> \nearrow Captación de glucosa por miotubos L6. \nearrow Translocación de GLUT4 y fosforilación de AMPK en músculo esquelético <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>. \searrow Hiperglicemia en TTOG en ratones. \Rightarrow Efectos antidiabéticos. \nearrow Actividad de linfocitos CD4+ y actividad citotóxica de células NK <i>in vivo</i>. \searrow Enzima inter-conversora de angiotensina y \searrow presión sistólica en ratas hipertensivas. </p>	58 59 60
			
Ácido 3,4-dihidroxifenil acético	Glicosidos de quercetina	<p> \nearrow Expresión y actividad de aldehyde-deshidrogenasa en línea celular hepática \nearrow Translocación nuclear de Nrf2 y de AhR (Aryl hydrocarbon Receptor). \searrow Citotoxicidad inducida por H₂O₂ en hepatocitos. \searrow Secreción de TNF, IL1β e IL6 en células mononucleares de la sangre periférica estimulados por LPS. \nearrow Translocación de Nrf2 al núcleo y protege células β-pancreáticas MIN-6 de la alteración de la secreción de insulina inducida por colesterol. Previene estrés oxidativo, apoptosis y disfunción mitocondrial. </p>	61 62 63 64
			
Ácido 3,4-dihidroxifenil propionico	Glicosidos de quercetina	<p> \searrow Secreción de TNF, IL1β e IL6 en células mononucleares de la sangre periférica estimulados por LPS Protege frente a alteraciones de permeabilidad inducidas por p-cresol en células intestinales Caco-2 </p>	63 65
			
Acido 3-(3-hidroxifenil)-Propionico		\searrow Expresión de P-selectina	66
			
Acido dihidrocafeico	Ácido clorogénico	\searrow Neurodegeneración \searrow Glicación de proteínas	67
Acido dihidroferulico			
Feruloilglicina		\searrow Expresión de P-selectina \searrow Agregación plaquetaria	66
Acido homovanilico			

CONCLUSIÓN

Los fitoquímicos dietarios representan una clase de no-nutrientes que pueden ejercer sus efectos beneficiosos para la salud en forma directa, principalmente en el tubo digestivo, o en forma indirecta a través de sus actividades prebióticas sobre la MI y de la formación de metabolitos bacterianos bioactivos que actúan tanto a nivel local como sistémico. Dichos metabolitos contribuyen a explicar los efectos saludables del consumo de frutas y verduras ricos en fitoquímicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Department of Economic's Health, MINSAL, Chile. Estudio sobre el cálculo de indicadores para el monitoreo del impacto socioeconómico de las enfermedades no transmisibles en Chile. MINSAL, PAHO, CEPAL 2015. Available: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/calculo-indicadores-impacto-socioeconomico-ent-chile.pdf>
2. Gotteland M. The role of intestinal microbiota in the development of obesity and type-2 diabetes. *Rev Chil Endocrinol Diabetes* 2013; 6(4): 155-162.
3. Ley R, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JL. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 11070-11075.
4. Fujio-Vejar S, Vasquez Y, Morales P, Magne F, Vera-Wolf P, Ugalde J, Navarrete P, Gotteland M. The Gut Microbiota of healthy Chilean subjects reveals a high abundance of the Phylum Verrucomicrobia. *Front Microbiol* 2017(8): 1221.
5. Hu J, Lin S, Zheng B, Cheung PCK. Short-chain fatty acids in control of energy metabolism. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2018; 58(8): 1243-1249.
6. Eaton SB. The ancestral human diet: what was it and should it be a paradigm for contemporary nutrition? *Proc Nutr Soc* 2006; 65(1): 1-6.
7. Probst YC, Guan VX, Kent K. Dietary phytochemical intake from foods and health outcomes: a systematic review protocol and preliminary scoping. *BMJ Open* 2017; 7(2): e013337.
8. Bohn T. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. *Nutr Rev* 2014; 72(7): 429-452.
9. Jenner AM, Rafter J, Halliwell B. Human fecal water content of phenolics: the extent of colonic exposure to aromatic compounds. *Free Radic Biol Med* 2005; 38(6): 763-72.
10. Cires MJ, Wong X, Carrasco-Pozo C, Gotteland M. The gastrointestinal tract as a key target organ for the health-promoting effects of dietary proanthocyanidins. *Front Nutr* 2017; 3: 57.
11. Wong X, Madrid AM, Tralma K, Castillo R, Carrasco-Pozo C, Navarrete P, Beltran C, Pastene E, Gotteland M. Polyphenol extracts interfere with bacterial lipopolysaccharide in vitro and decrease postprandial endotoxemia in human volunteers. *J Funct Foods* 2016; 26(10): 406-417.
12. Wong X, Carrasco-Pozo C, Escobar E, Navarrete P, Blachier F, Andriamihaja M, Lan A, Tomé D, Cires MJ, Pastene E, Gotteland M. Deleterious Effect of p-cresol on human colonic epithelial cells prevented by proanthocyanidin-containing polyphenol extracts from fruits and proanthocyanidin bacterial metabolites. *J Agric Food Chem* 2016; 64(18): 3574-3583.
13. Andriamihaja M, Lan A, Beaumont M, Grauso M, Gotteland M, Pastene E, Cires MJ, Carrasco-Pozo C, Tomé D, Blachier F. Proanthocyanidin-containing polyphenol extracts from fruits prevent the inhibitory effect of hydrogen sulfide on human colonocyte oxygen consumption. *Amino Acids* 2018; 50(6): 755-763.
14. Rowland I, Gibson G, Heinken A, Scott K, Swann J, Thiele I, Tuohy K. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *Eur J Nutr* 2018; 57(1): 1-24.
15. Okubo T, Ishihara N, Takahashi H, Fujisawa T, Kim M, Yamamoto T, Mitsuoka T. Effects of partially hydrolyzed guar gum intake on human intestinal microflora and its metabolism. *Biosci Biotechnol Biochem* 1994; 58(8): 1364-1369.
16. Yamakoshi J, Tokutake S, Kikuchi M, Kubota Y, Konishi H, Mitsuoka T. Effect of proanthocyanidin -rich extract from grape seed on human fecal flora and fecal odor. *Microbiol Ecol Health Dis* 2001; 13(1): 25-31.
17. Mai V, Katki HA, Harmsen H, Gallaher D, Schatzkin A, Baer DJ, Clevidence B. Effects of a controlled diet and black tea drinking on the fecal microflora composition and the fecal bile acid profile of human volunteers in a double-blinded randomized feeding study. *J Nutr* 2004; 134(2): 473-478.
18. Clavel T., Fallani M., Lepage P., Levenez F, Mathey J, Rochet V, Sérézat M, Sufren M, Henderson G, Bennetau-Pelissero C, Tondou F, Blaut M, Doré J, Coxam V. Isoflavones and functional foods alter the dominant intestinal microbiota in postmenopausal women. *J Nutr* 2005; 135(12): 2786-2792.
19. Costabile A, Klinder A, Fava F, Napolitano A, Fogliano V, Leonard C, Gibson GR, Tuohy KM. Whole-grain wheat breakfast cereal has a prebiotic effect on the human gut microbiota: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Br J Nutr* 2008; 99(1): 110-120.
20. Jaquet M, Rochat I, Moulin J, Cavin C, Bibiloni R. Impact of coffee consumption on the gut microbiota: a human volunteer study. *Int J Food Microbiol* 2009; 130(2): 117-121.
21. Carvalho-Wells AL, Helmolz K, Nodet C, Molzer C, Leonard C, McKeivith B, Thielecke F, Jackson KG, Tuohy KM. Determination of the in vivo prebiotic potential of a maize-based whole grain breakfast cereal: a human feeding study. *Br J Nutr* 2010; 104(9): 1353-1356.
22. Gill CIR, Mcdougall GJ, Glidewell S, Stewart D, Shen Q, Tuohy K, Dobbin A, Boyd A, Brown E, Haldar S, Rowland IR. Profiling of phenols in human fecal water after raspberry supplementation *J Agric Food Chem* 2010; 58(19): 10389-10395.
23. Shinohara K, Ohashi Y, Kawasumi K, Terada A, Fujisawa T. Effect of apple intake on fecal microbiota and metabolites in humans. *Anaerobe* 2010; 16(5): 510-515.
24. Tzounis X, Rodriguez-Mateos A, Vulevic J, Gibson GR, Kwik-Urbe C, Spencer JPE. Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. *Am J Clin Nutr* 2011; 93(1): 62-72.
25. Vendrame S, Cuglielmetti S, Riso P, Arioli S, Klimis-Zacas D, Porrini M. Six-week consumption of a wild blueberry powder drink increases bifidobacteria in the human gut. *J Agric Food Chem* 2011; 59(24): 12815-12820.
26. Queipo-Ortuño MI, Boto-Ordóñez M, Murri M, Gomez-Zumaquero JM, Clemente-Postigo M, Estruch R, Cardona Díaz F, Andrés-Lacueva C, Tinahones FJ. Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers. *Am J Clin Nutr* 2012; 95(6): 1323-1334.
27. Jin JS, Touyama M, Hisada T, Benno Y. Effects of green tea consumption on human fecal microbiota with special reference to *Bifidobacterium* species. *Microbiol Immunol*

- 2012; 56(11): 729-739.
28. Guglielmetti S, Fracassetti D, Taverniti V, Del Bo' C, Vendrame S, Klimis-Zacas D, Arioli S, Riso P, Porrini M. Differential modulation of human intestinal *Bifidobacterium* populations after consumption of a wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) drink. *J Agric Food Chem* 2013; 61(34): 8134-8140.
 29. Cuervo A, Valdés L, Salazar N, de los Reyes-Gavilán CG, Ruas-Madiedo P, Gueimonde M, González S. Pilot study of diet and microbiota: interactive associations of fibers and polyphenols with human intestinal bacteria. *J Agric Food Chem* 2014; 62(23): 5330-5336.
 30. Dueñas M, Muñoz-González I, Cueva C, Jiménez-Girón A, Sánchez-Patán F, Santos-Buelga C, Moreno-Arribas MV, Bartolomé B. A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. *Biomed Res Int* 2015; 850902.
 31. Bindels LB, Delzenne NM, Cani PD, Walter J. Towards a more comprehensive & concept for prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015; 12(5): 303-310.
 32. Derrien M, Belzer C, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating and host functions. *Microb Pathog* 2017; 106: 171-181.
 33. Roopchand D, Carmody R, Kuhn P, Moskal K, Rojas-Silva P, Turnbaugh P, Raskin I. Dietary polyphenols promote growth of the gut bacterium *Akkermansia muciniphila* and attenuate high fat diet-induced metabolic syndrome. *Diabetes* 2015; 64: 2847-2858.
 34. Anhê F, Roy D, Pilon G, Dudonné S, Matamoros S, Varin T, Marette A. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice. *Gut* 2015; 64(6): 872-883.
 35. Schneeberger M, Everard A, Gómez-Valadés A, Matamoros S, Ramírez S, Delzenne N, Gomis R, Claret M, Cani PD. *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. *Sci Rep* 2015; 5: 16643.
 36. Li Z, Henning S, Lee P, Lu QY, Summanen PH, Thames G, Corbett K, Downes J, Tseng CH, Fingold SM, Heber D. Pomegranate extract induces ellagitannin metabolite formation and changes stool microbiota in healthy volunteers. *Food Funct* 2015; 6(8): 2487-2495.
 37. Paquette M, Medina Larqué AS, Weisnagel SJ, Desjardins Y, Marois J, Pilon G, Dudonné S, Marette A, Jacques H. Strawberry and cranberry polyphenols improve insulin sensitivity in insulin-resistant, non-diabetic adults: a parallel, double-blind, controlled and randomised clinical trial. *Br J Nutr* 2017; 117(4): 519-531.
 38. Tzounis X, Vulevic J, Kuhnle GG, George T, Leonczak J, Gibson GR, Kwik-Uribe C, Spencer JP. Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *Br J Nutr* 2008; 99(4): 782-92.
 39. Zhang X, Shen D, Fang Z, Jie Z, Qiu X, Zhang C, Chen Y, Ji L. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One*. 2013; 8: e71108.
 40. Moreno-Indias I, Sanchez-Alcoholado L, Perez-Martinez P, Andrés-Lacueva C, Cardona F, Tinahones F, Queipo-Ortuño MI. Red wine polyphenols modulate fecal microbiota and reduce markers of the metabolic syndrome in obese patients. *Food Funct* 2016; 7(4): 1775-1787.
 41. Rechner AR, Smith MA, Kuhnle G, Gibson GR, Debnam ES, Srai SK, Moore KP, Rice-Evans CA. Colonic metabolism of dietary polyphenols: influence of structure on microbial fermentation products. *Free Radic Biol Med* 2004; 36(2): 212-225.
 42. Bolca S, Van de Wiele T, Possemiers S. Gut metabolites govern health effects of dietary polyphenols. *Curr Opin Biotechnol* 2013; 24: 220-225.
 43. Tomás-Barberán FA, González-Sarrías A, García-Villalba R, Núñez-Sánchez MA, Selma MV, García-Conesa MT, Espín JC. Urolithins, & the rescue of 'old' metabolites to understand a 'new' concept; metabolites as a nexus between phenolic metabolism, microbiota dysbiosis and host health status. *Mol Nutr Food Res* 2016; 61(1): 1500901.
 44. Hwan CS, Kwak HS, Lim HJ, Lee SH, Kang YS, Choe TB, Hur HG, Han KO. Isoflavone metabolites and their in vitro dual functions: they can act as an estrogenic agonist or antagonist depending on the estrogen concentration. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006; 101: 246-53.
 45. Tomás-Barberán, F.A., Selma, M.V., & Espín, J.C. Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences to human health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2016; 19(6): 471-476.
 46. Selma MV, Romo-Vaquero M, García-Villalba R, González-Sarrías A, Tomás-Barberán FA, Espín JC. The human gut microbial and ecology associated to overweight and obesity determines ellagic acid metabolism. *Food Funct* 2016; 7(4): 1769-1774.
 47. Ishimoto H, Shibata M, Myojin Y, Ito H, Sugimoto Y, Tai A, Hatano T. In vivo anti-inflammatory and antioxidant properties of ellagitannin metabolite urolithin A. *Bioorg Med Chem Lett* 2011; 21(19): 5901-5904.
 48. Larrosa M, González-Sarrías A, García-Conesa MT, Tomás-Barberán FA, Espín JC. Urolithins, ellagic acid-derived metabolites produced by human colonic microflora, exhibit estrogenic and antiestrogenic activities. *J Agric Food Chem* 2006; 54(5): 1611-1620.
 49. Clavel T, Borrmann D, Braune A, Doré J, Blaut M. Occurrence and activity of human intestinal bacteria involved in the conversion of dietary lignans. *Anaerobe* 2006; 12(3): 140-147.
 50. Damdimopoulou P, Nurmi T, Salminen A, Damdimopoulos AE, Kotka M, van der Saag P, Strauss L, Poutanen M, Pongratz I, Mäkelä S. A single dose of enterolactone activates estrogen signaling and regulates expression of circadian clock genes in mice. *J Nutr* 2011; 141(9): 1583-1589.
 51. Possemiers S, Bolca S, Grootaert C, Heyerick A, Decroos K, Dhooge W, De Keuleleire D, Rabot S, Verstraete W, Van de Wiele T. The prenylflavonoid isoxanthohumol from hops (*Humulus lupulus* L.) is activated into the potent phytoestrogen 8-prenylnaringenin in vitro and in the human intestine. *J Nutr* 2006; 136(7): 1862-1867.
 52. Smith AH, Mackie RI. Effect of condensed tannins on bacterial diversity and metabolic activity in the rat gastrointestinal tract. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70(2): 1104-1115.
 53. Lee Y, Yang H, Hur G, Yu J, Park S, Kim JH, Yoon Park JH, Shin HS, Kim JE, Lee KW. 5-(3',4'-Dihydroxyphenyl)- γ -valerolactone, a metabolite of procyanidins in cacao, suppresses MDI-induced adipogenesis by regulating cell cycle progression through direct inhibition of CDK2/cyclin O. *Food Funct*. 2019; 10(5): 2958-2969.
 54. Unno K, Pervin M, Nakagawa A, Iguchi K, Hara A, Takagaki A, Nanjo F, Minami A, Nakamura Y. Blood-brain barrier permeability of green tea catechin metabolites and their neurotogenic activity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Mol Nutr Food Res* 2017; 61(12): 1700294.

55. Lee CC, Kim JH, Kim JS, Oh YS, Han SM, Park JHY, Lee KW, Lee CY. 5-(3',4'-dihydroxyphenyl- γ -valerolactone), a major microbial metabolite of proanthocyanidin, attenuates THP-1 monocyte-endothelial adhesion. *Int J Mol Sci* 2017; 18(7): pii: e1363.
56. Uhlenhut K, Högger P. Facilitated cellular uptake and suppression of inducible nitric oxide synthase by a metabolite of maritime pine bark extract (Pycnogenol). *Free Rad Biol Med* 2012; 53(2): 305-313.
57. Mele L, Carobbio S, Brindani N, Curti C, Rodriguez-Cuenca S, Bidault G, Mena P, Zanotti I, Vacca M, Vidal-Puig A, Del Rio D. Phenyl- γ -valerolactones, flavan-3-ol colonic metabolites, protect brown adipocytes from oxidative stress without affecting their differentiation or unction. *Mol Nutr Food Res* 2017; 61(9): 1700094.
58. Takagaki A, Yoshioka Y, Yamashita Y, Nagano T, Ikeda M, Hara-Terawaki A, Seto R, Ashida H. Effects of microbial metabolites of (-)-epigallocatechin gallate on glucose uptake in L6 skeletal muscle cell and glucose tolerance in ICR mice. *Biol Pharm Bull* 2019; 42(2): 212-221.
59. Kim YH, Won YS, Yang X, Kumazoe M, Yamashita S, Hara A, Takagaki A, Goto K, Nanjo F, Tachibana H. Green tea catechin metabolites exert immunoregulatory effects on CD4(+) T Cell and Natural Killer Cell Activities. *J Agric Food Chem* 2016; 64(18): 3591-3597.
60. Takagaki A, Nanjo F. Effects of Metabolites Produced from (-)-Epigallocatechin Gallate by Rat Intestinal Bacteria on Angiotensin I-Converting Enzyme Activity and Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats. *J Agric Food Chem* 2015; 63(37): 8262-8266.
61. Liu Y, Kurita A, Nakashima S, Zhu B, Munemasa S, Nakamura T, Murata Y, Nakamura Y. 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid is a potential aldehyde dehydrogenase inducer in murine hepatoma Hepa1c1c7 cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2017; 81(10): 1978-1983.
62. Tang Y, Nakashima S, Saiki S, Myoi Y, Abe N, Kuwazuru S, Zhu B, Ashida H, Murata Y, Nakamura Y. 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid is a predominant biologically-active catabolite of quercetin glycosides. *Food Res Int* 2016; 89(Part 1): 716-723.
63. Monagas M, Khan N, Andrés-Lacueva C, Urpí-Sardá M, Vázquez-Agell M, Lamuela-Raventós RM, Estruch R. Dihydroxylated phenolic acids derived from microbial metabolism reduce lipopolysaccharide-stimulated cytokine secretion by human peripheral blood mononuclear cells. *Br J Nutr* 2009; 102(2): 201-206.
64. Carrasco-Pozo C, Gotteland M, Castillo RL, Chen C. 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid, a microbiota-derived metabolite of quercetin, protects against pancreatic β -cells dysfunction induced by high cholesterol. *Exp Cell Res* 2015; 334(2): 270-282.
65. Rechner AR, Kroner C. Anthocyanins and colonic metabolites of dietary polyphenols inhibit platelet function. *Thromb Res* 2005; 116(4): 327-334.
66. Verzelloni E, Pellacani C, Tagliazucchi D, Tagliaferri S, Calani L, Costa LG, Brighenti F, Borges G, Crozier A, Conte A, Del Rio D. Antiglycative and neuroprotective activity of colon-derived polyphenol catabolites. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55(Suppl 1): S35-43.
67. Appeldoorn MM, Vincken JP, Aura AM, Hollman PC, Gruppen H. Procyanidin dimers are metabolized by human microbiota with 2-(3,4-dihydroxyphenyl) acetic acid and 5-(3,4-dihydroxyphenyl)-gamma-valerolactone as the major metabolites. *J Agric Food Chem* 2009; 57(3): 1084-1092.
68. Rodriguez-Mateos A, Cifuentes-Gomez T, Gonzalez-Salvador I, Ottaviani JJ, Schroeter H, Kelm M, Heiss C, Spencer JP. Influence of age on the absorption, metabolism, and excretion of cocoa flavanols in healthy subjects. *Mol Nutr Food Res* 2015; 59(8): 1504-1512.
69. Miene C, Weise A, Gleis M. Impact of polyphenol metabolites produced by colonic microbiota on expression of COX-2 and GSTT2 in human colon cells (LT97). *Nutr Cancer* 2011; 63(4): 653-662.
70. Huć T, Nowinski A, Drapala A, Konopelski P, Ufnal M. Indole and indoxyl sulfate, gut bacteria metabolites of tryptophan, change arterial blood pressure via peripheral and central mechanisms in rats. *Pharmacol Res* 2018; 130: 172-179.
71. Kawai Y, Nishikawa T, Shiba Y, Saito S, Murota K, Shibata N, Kobayashi M, Kanayama M, Uchida K, Terao J. Macrophage as a target of quercetin glucuronides in human atherosclerotic arteries: implication in the anti-atherosclerotic mechanism of dietary flavonoids. *J Biol Chem* 2008; 283(14): 9424-9434.