



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
TESIS DOCTORAL

Interindividualidad asociada al metabolismo de polifenoles por la microbiota intestinal: nuevos metabotipos y sus agrupaciones, metabolitos y bacterias, y posibles implicaciones en salud

D. Carlos Eduardo Iglesias Aguirre
2023



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
TESIS DOCTORAL

Interindividualidad asociada al metabolismo de polifenoles por la
microbiota intestinal: nuevos metabotipos y sus agrupaciones,
metabolitos y bacterias, y posibles implicaciones en salud

Autor: D. Carlos Eduardo Iglesias Aguirre

Director/es: D. Juan Carlos Espín de Gea y D^a. María Victoria
Selma García



**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD
DE LA TESIS PRESENTADA EN MODALIDAD DE COMPENDIO O ARTÍCULOS PARA
OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. Carlos Eduardo Iglesias Aguirre

doctorando del Programa de Doctorado en

Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Interindividualidad asociada al metabolismo de polifenoles por la microbiota intestinal: nuevos metabotipos y sus agrupaciones, metabolitos y bacterias, y posibles implicaciones en salud

y dirigida por,

D./Dña. Juan Carlos Espín de Gea

D./Dña. María Victoria Selma García

D./Dña.

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Además, al haber sido autorizada como compendio de publicaciones o, tal y como prevé el artículo 29.8 del reglamento, cuenta con:

- *La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- *En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 21 de octubre de 2023

Fdo.: Carlos Eduardo Iglesias Aguirre

IGLESIAS AGUIRRE
CARLOS
EDUARDO -
34370686S

Firmado digitalmente por
IGLESIAS AGUIRRE CARLOS
EDUARDO - 34370686S
Fecha: 2023.09.21 14:31:48
+02'00'

La presente Tesis Doctoral y los estudios incluidos en la misma se han realizado gracias a la financiación del proyecto de investigación:

- **PID2019-103914RB-I00**. Estrategias frontera mediante trasplantes fecales: *“Metabotipos humanos de la microbiota intestinal asociados a polifenoles, riesgo cardiometabólico y deterioro cognitivo (MetaboGut)”*. (01/06/2020 – 30/05/2023).

El autor de esta Tesis Doctoral ha sido beneficiario desde el 31/10/2019 hasta el momento actual de un contrato predoctoral FPU (**FPU2018/03961**) de 4 años de duración, concedido por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.



El trabajo de esta Tesis Doctoral ha sido realizado en el **Centro de Edafología y Biología aplicada del Segura** del **Consejo Superior de Investigaciones Científicas** (CEBAS-CSIC), dentro del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

Esta Tesis Doctoral ha dado lugar a las siguientes publicaciones científicas y forman el compendio de artículos de la misma:

Iglesias-Aguirre, C. E., Cortés-Martín, A., Ávila-Gálvez, M. Á., Giménez-Bastida, J. A., Selma, M. V., González-Sarrías, A., & Espín, J. C. (2021). Main drivers of (poly)phenol effects on human health: metabolite production and/or gut microbiota-associated metabolotypes? *Food & Function*, 12(21), 10324–10355.

<https://doi.org/10.1039/d1fo02033a>

Iglesias-Aguirre, C. E., Vallejo, F., Beltrán, D., Berná, J., Puigcerver, J., Alajarín, M., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2022). 4-Hydroxydibenzyl: a novel metabolite from the human gut microbiota after consuming resveratrol. *Food & Function*, 13(14), 7487–7493. <https://doi.org/10.1039/d2fo01475k>

Iglesias-Aguirre, C. E., Vallejo, F., Beltrán, D., Aguilar-Aguilar, E., Puigcerver, J., Alajarín, M., Berná, J., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2022). Lunularin Producers versus Non-producers: Novel Human Metabotypes Associated with the Metabolism of Resveratrol by the Gut Microbiota. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 70(34), 10521–10531. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c04518>

Iglesias-Aguirre, C. E., García-Villalba, R., Beltrán, D., Frutos-Lisón, M. D., Espín, J. C., Tomás-Barberán, F. A., & Selma, M. V. (2023). Gut Bacteria Involved in Ellagic Acid Metabolism To Yield Human Urolithin Metabotypes Revealed. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 71(9), 4029–4035. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c08889>

Iglesias-Aguirre, C. E., González-Sarrías, A., Cortés-Martín, A., Romo-Vaquero, M., Osuna-Galisteo, L., Cerón, J. J., Espín, J. C., & Selma, M. V. (2023). *In vivo* administration of gut bacterial consortia replicates urolithin metabotypes A and B in a non-urolithin-producing rat model. *Food & Function*, 14(6), 2657–2667.

<https://doi.org/10.1039/d2fo03957e>

Iglesias-Aguirre, C. E., Ávila-Gálvez, M. Á., López de Las Hazas, M. C., Dávalos, A., & Espín, J. C. (2022). Exosome-Containing Extracellular Vesicles Contribute to the Transport of Resveratrol Metabolites in the Bloodstream: A Human Pharmacokinetic Study. *Nutrients*, 14(17), 3632. <https://doi.org/10.3390/nu14173632>

Otras publicaciones científicas derivadas de la Tesis Doctoral, que no forman parte del compendio de artículos, pero se mencionan como anexos:

García-Villalba, R., Tomás-Barberán, F. A., **Iglesias-Aguirre, C. E.**, Giménez-Bastida, J. A., González-Sarrías, A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2023). Ellagitannins, urolithins, and neuroprotection: Human evidence and the possible link to the gut microbiota. *Molecular Aspects Of Medicine*, 89, 101109. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2022.101109>

Iglesias-Aguirre, C. E., Romo-Vaquero, M., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2023). Unveiling metabotype clustering in resveratrol, daidzein, and ellagic acid metabolism: prevalence, associated gut microbiomes, and their distinctive microbial networks. *Food Research International* 173, 113470. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113470>

González-Sarrías, A., **Iglesias-Aguirre, C. E.**, Cortés-Martín, A., Vallejo, F., Cattivelli, A., Del Pozo-Acebo, L., Del Saz, A., López de Las Hazas, M. C., Dávalos, A., & Espín, J. C. (2022). Milk-Derived Exosomes as Nanocarriers to Deliver Curcumin and Resveratrol in Breast Tissue and Enhance Their Anticancer Activity. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(5), 2860. <https://doi.org/10.3390/ijms23052860>

Otras publicaciones científicas del autor realizadas durante su etapa predoctoral que no se han incluido en la presente Tesis Doctoral:

Cortés-Martín, A., **Iglesias-Aguirre, C. E.**, Meoro, A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2021). Pharmacological Therapy Determines the Gut Microbiota Modulation by a Pomegranate Extract Nutraceutical in Metabolic Syndrome: A Randomized Clinical Trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 65(6), e2001048. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202001048>

Cortés-Martín, A., **Iglesias-Aguirre, C. E.**, Meoro, A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2020). There is No Distinctive Gut Microbiota Signature in the Metabolic Syndrome: Contribution of Cardiovascular Disease Risk Factors and Associated Medication. *Microorganisms*, 8(3), 416. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030416>

Silva-Reis, R., Castro-Ribeiro, C., Gonçalves, M., Ferreira, T., Pires, M. J., **Iglesias-Aguirre, C. E.**, Cortés-Martín, A., Selma, M. V., Espín, J. C., Nascimento-Gonçalves, E., Moreira-Pais, A., Neuparth, M. J., Peixoto, F., Rosa, E., Gama, A., Ferreira, R., Oliveira, P. A., & Faustino-Rocha, A. I. (2022). An Integrative Approach to Characterize the Early Phases of Dimethylhydrazine-Induced Colorectal Carcinogenesis in the Rat. *Biomedicines*, 10(2), 409. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020409>

Capítulo de libro:

Selma, M. V., Beltrán, D., **Iglesias-Aguirre, C. E.**, Espín, J. C., Tomás-Barberán F. A. (2022) *Ellagibacter*. En Carro, L. & Charles, J (Eds.), *Eggerthellaceae* Family. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley & Sons. Inc., USA. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01988>

AGRADECIMIENTOS

Aún me cuesta creer que haya llegado el final de esta travesía que empezó hace cuatro años y que ha contribuido tanto a mi crecimiento personal y profesional. A pesar de los desafíos que encontré en el camino, la presencia de personas maravillosas ha sido fundamental para que culminara de la mejor manera posible. Quiero aprovechar este espacio para expresar mi más sincera gratitud a todos ustedes que contribuyeron, de una forma u otra, a la realización de esta Tesis Doctoral.

En primer lugar, quiero agradecer profundamente a mis directores, Juan Carlos y Victoria, por darme la oportunidad de ser parte de su equipo y la confianza que depositaron en mí para realizar este trabajo. Su orientación, experiencia y dedicación me guiaron a lo largo de este viaje científico. Su ejemplo ha dejado huella en mi formación como investigador, la cual no pudo haber iniciado de mejor forma.

Juan Carlos, te agradezco por ser un gran mentor durante estos años. Admiro tu dedicación y motivación por la ciencia, y te doy las gracias porque siempre estuviste accesible y dispuesto a brindarme consejos y enseñanzas a lo largo del camino. Esto ha hecho que este reto fuera mucho más fácil y enriquecedor.

Victoria, aún recuerdo con cariño el primer día que me pasé a verte. Te agradezco por haber apostado por mí desde el principio y por tus consejos durante este proceso. Gracias por tu disposición a despejar mis dudas, por ser una buena guía y ofrecerme tu orientación cuando la necesitaba.

Agradezco de todo corazón a mis compañeros de Departamento por los buenos recuerdos y por hacerme sentir como en casa desde el principio. Mi más profunda

gratitud, especialmente a Antonio, María, Fernando, David, Juan y Alicia por su ayuda y generosidad al compartir su experiencia y conocimientos conmigo. He aprendido mucho de vosotros. Gracias por siempre tenderme una mano en cualquier cosa que necesité. Su apoyo fue esencial en muchos momentos para el desarrollo de este trabajo.

De igual forma, mil gracias a Adrián, Ángela, Lola y Salva, por brindarme su ayuda dentro del laboratorio y fuera de él. Les agradezco por haberme acompañado en diferentes partes de este proceso, compartiendo horas de trabajo y ayudándome con varias tareas, así como pasando buenos momentos, echando unas risas y hasta bailes. Su amistad y apoyo fueron fundamentales. Lo mismo para Franck, Sofía, Carlos, Marcelo y Livia, que, aunque no compartimos trabajo y algunos estuvieron poco tiempo, se convirtieron en amigos de los que me llevo muy buenos recuerdos, y que fueron también parte importante de esta etapa. Gracias por esos ratos de desconexión y buenas sesiones de fiesta muy necesarias también ;)

También, agradezco al resto de coautores con los que no tuve oportunidad de trabajar de forma directa, pero que, sin duda, su aportación ha sido indispensable para este trabajo. Por supuesto, no me olvido de Daniel, Alicia Albacete e Irene, quienes nos acompañaron por poco tiempo, pero agradezco mucho su ayuda que fue muy valiosa para mí.

Este ha sido un largo camino, en el que he tenido oportunidad de coincidir con muchas personas. Mi agradecimiento se extiende a Sancho, Cristina, Antonia, Miroljub y Enrique de la Universidad de Murcia, con quienes compartí varios momentos y también no dudaron en apoyarme cuando fue necesario.

A mi madre quiero expresar mi eterna gratitud por su amor incondicional, su constante apoyo y por ser mi mayor ejemplo. Todo lo que soy te lo debo a ti. Nunca podré regresarte todo lo que siempre has hecho por mí. ¡Eres lo más grande!

Gabriel te agradezco por estar siempre a mi lado, en especial durante toda esta etapa. Fueron unos años complicados en muchos sentidos, y sin duda tu amor, comprensión y apoyo han sido mi mayor fortaleza. No podría haber llegado hasta aquí sin ti. Te estaré eternamente agradecido por siempre apoyarme en todo lo que hago, por tu generosidad, por siempre darme ánimos, por ser mi compañero de aventuras y quererme incondicionalmente.

A todos, les agradezco de corazón ¡Sin ustedes esto no hubiera sido posible!

RESUMEN

Los (poli)fenoles son compuestos bioactivos presentes en los alimentos vegetales. Aunque diversos estudios clínicos y de intervención han evidenciado efectos preventivos de dietas ricas en (poli)fenoles, como la dieta mediterránea, frente a enfermedades cardiometabólicas, inflamatorias y neurodegenerativas, estos efectos no se producen en todos los individuos por igual, fundamentalmente por la variabilidad interindividual en su metabolización.

Uno de los principales causantes de dicha variabilidad en el metabolismo y bioactividad de los (poli)fenoles es la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal (MI), distinta en cada individuo. Los individuos pueden agruparse según “metabotipos”, es decir, por la capacidad diferencial de su MI para metabolizar algunos (poli)fenoles como las isoflavonas (soja) hasta equol (“productores o no de equol”) y los elagitaninos (ETs) (granada, bayas y nueces) hasta urolitinas (UROs) (“metabotipos de UROs: UMA, UMB (según UROs producidas) o UM0 (no productores)”. También se han identificado algunas bacterias metabolizadoras de estos (poli)fenoles como ciertas especies de *Adlercreutzia* y *Slackia*, productoras de equol, y de *Gordonibacter* y *Ellagibacter*, productoras de algunas UROs.

La bioactividad de los (poli)fenoles también está condicionada por su baja biodisponibilidad, pues además del metabolismo bacteriano, también son metabolizados en el organismo hasta conjugados de fase-II como sulfatos y glucurónidos, mucho menos bioactivos que sus precursores.

En esta Tesis Doctoral, los objetivos incluyeron investigar la existencia de nuevos metabotipos y metabolitos de (poli)fenoles relacionados con el metabolismo microbiano, nuevas bacterias implicadas en las transformaciones de las UROs y su uso para la replicación *in vivo* de los metabotipos de UROs. También, se exploró la presencia de diferentes combinaciones de metabotipos en un mismo individuo, su prevalencia, la MI asociada, su funcionalidad y sus distintivas redes microbianas. Además, se investigó el uso de exosomas de leche (EXOs-L) para encapsular y vehicular resveratrol (RSV) y curcumina (CUR) hasta tejidos sistémicos y evaluar el efecto anticancerígeno con las concentraciones detectadas. Por último, se exploró la posible encapsulación y transporte de (poli)fenoles y/o sus metabolitos en vesículas extracelulares con exosomas (E-EVs) humanos.

Se realizaron 2 estudios de intervención humana, uno de estratificación de metabotipos y efecto en la MI (7 días), y otro farmacocinético (transporte en E-EVs). En ambos, los participantes consumieron cápsulas con extractos ricos en (poli)fenoles. También, 2 estudios en animales: en uno, las ratas consumieron dos fuentes de (poli)fenoles y bacterias productoras de UROs y en el otro, RSV y CUR encapsulados en EXOs-L. También se realizó 1 estudio *in vitro* con cultivos bacterianos y otro en modelos celulares de cáncer de mama. Se analizaron muestras de sangre, exosomas, orina, heces, e incubaciones *in vitro* mediante metabolómica (HPLC-DAD-ESI-Q-MS, UPLC-ESI-QTOF-MS y GC-MS), análisis de la MI por secuenciación (16S ARNr) y reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (qPCR), y análisis bioinformáticos y estadísticos, entre otras técnicas y enfoques.

Los principales resultados obtenidos han sido: identificación de un nuevo metabolito (4-hidroxidibencilo) derivado del metabolismo microbiano de RSV; nuevos metabotipos de la MI asociados al metabolismo de RSV (“productores o no de lunularina”); identificación de 10 agrupaciones diferentes de los metabotipos, y caracterización de su MI asociada; identificación de la nueva Uro-G, y aislamiento e identificación de nuevas bacterias implicadas en el metabolismo de UROs (varias especies de *Enterocloster*), y caracterización de consorcios bacterianos responsables de los UMs; replicación *in vivo* del perfil de producción de UROs, administrando dichos consorcios y evaluando su seguridad; uso de EXOs-L cargados con RSV y CUR, aumentando su biodisponibilidad y actividad anticancerígena; y finalmente, identificación de E-EVs humanos como transportadores de RSV y sus metabolitos en sangre.

Estos resultados contribuyen de forma pionera a identificar estrategias personalizadas, dirigidas a mejorar los efectos saludables de los (poli)fenoles.

ABSTRACT

(Poly)phenols are bioactive compounds present in plant-foods. Clinical and intervention studies have shown the preventive effects of (poly)phenol-rich diets, such as the Mediterranean diet, against cardiometabolic, inflammatory, and neurodegenerative diseases. However, these effects do not occur equally in all individuals, mainly due to the interindividual variability in the metabolism of (poly)phenols.

One of the primary factors contributing to the variability in the metabolism and bioactivity of (poly)phenols is the composition and functionality of the gut microbiota (GM), which varies among individuals. Individuals can be grouped according to “metabotypes”, based on their GM's differential capacity to metabolize certain (poly)phenols, such as isoflavones (soy) to equol (“equol-producers or non-producers”) and ellagitannins (pomegranate, berries, and nuts) to urolithins (UROs) (“URO metabotypes”: UMA, UMB (according to UROs produced) or UMO (UROs non-producers). Some bacteria that metabolize these (poly)phenols have also been identified, such as certain species of *Adlercreutzia* and *Slackia*, which produce equol, and *Gordonibacter* and *Ellagibacter*, which produce some UROs.

The bioactivity of (poly)phenols is also conditioned by their low bioavailability since, in addition to bacterial metabolism, they are also metabolized by the body's cells into phase-II conjugates such as sulfates and glucuronides, which exhibit much lower activity than their precursors.

In this Doctoral Thesis, our objectives included to investigating the existence of new metabotypes and metabolites of (poly)phenols related to microbial metabolism, new bacteria involved in UROs metabolism, and their use for *in vivo* replication of UROs metabotypes. Also, the presence of different combinations of metabotypes within the same individual, their prevalence in the population, their associated GM composition, functionality, and distinctive microbial networks were explored. In addition, we investigated the use of milk exosomes (EXOs-L) to encapsulate and transport resveratrol (RSV) and curcumin (CUR) to systemic tissues, and evaluated their anticancer effects at detected concentrations. Finally, the possible encapsulation and transport of (poly)phenols and(or) their metabolites in human exosome-containing EVs (E-EVs) were also explored.

Human, animal, and *in vitro* studies were carried out to achieve these goals. Two human intervention studies were performed: stratification of metabotypes and GM modulation (7 days), as well as a pharmacokinetic study (transport in E-EVs). The participants consumed capsules containing (poly)phenol-rich plant extracts in both trials. Two animal studies: one where rats consumed two sources of (poly)phenols and URO-producing bacteria, and another, where they were administered with RSV and CUR, encapsulated in EXOs-L. Finally, one *in vitro* study with bacterial cultures and another with breast cancer cell models were also performed. Blood samples, exosomes, urine, feces, and *in vitro* incubations were analyzed using metabolomics (HPLC-DAD-ESI-Q-MS, UPLC-ESI-QTOF-MS, and GC-MS), GM analysis by genomic sequencing (16S rRNA) and real-time polymerase chain reaction (qPCR), as well as bioinformatics and statistical analysis were applied, among other techniques and approaches.

The main findings were: identification of a new metabolite (4-hydroxydibenzyl) derived from the gut microbial metabolism of RSV; new GM metabotypes associated with RSV metabolism (“lunularin-producers or non-producers”); identification of 10 different clusters of existing metabotypes, as well as their distinctive associated GM; identification of the new Uro-G, and the isolation and identification of new bacteria (several *Enterocloster* species) involved in the metabolism of UROs and characterization of bacterial consortia responsible for UMs; *in vivo* replication of the metabolic profile of UROs production using said consortia and evaluation of their safety; use of EXOs-L loaded with RSV and CUR, increasing their bioavailability and anticancer activity; and finally, identification of human E-EVs as new carriers of RSV and its metabolites through the bloodstream.

The research outcomes of this Thesis contribute in a pioneering way to identify personalized strategies aimed at improving the health effects of (poly)phenols.

ABREVIATURAS

16S rRNA: ácido ribonucleico ribosomal 16S

3HDB: 3-hidroxidibencilo

3HST: 3-hidroxi-*trans*-estilbeno

4HDB: 4-hidroxidibencilo

4HST: 4-hidroxi-*trans*-estilbeno

6FAM: grupo de 6-carboxi-fluoresceína, del inglés "6-carboxy-fluorescein group"

8-OHdG: 8-hidroxideoxiguanosina

8PN: 8-prenilnaringenina

ABC: transportadores dependientes de ATP, del inglés "ATP-binding cassette transporter"

ACN: acetonitrilo

AD: antidiabéticos

ADME: absorción, distribución, metabolismo y excreción

ADN: ácido desoxirribonucleico

ADP: adenosina-5'-difosfato

AGCC: ácidos grasos de cadena corta

AGs: ácidos grasos

AHL: acil-homoserina-lactonas

AIC: criterio de información de Akaike, del inglés "Akaike information criterion"

ALBU: albúmina

ALIX: proteína de interacción de muerte celular programada 6, del inglés "programmed cell death 6-interacting protein"

ALP: fosfatasa alcalina

ALT: alanina aminotransferasa

AMPK: proteína quinasa activada por monofosfato de adenina, del inglés "adenosine monophosphate-activated protein kinase"

ANCOVA: análisis de la covarianza

ANOVA: análisis de la varianza

APD: distancia promedio de la ruta, del inglés "average path distance"

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

ARNr: ácido ribonucleico ribosómico

AST: aspartato aminotransferasa

ATP: adenosín trifosfato

AUC: área bajo la curva, del inglés "area under the curve"

AVAs: aventramidas

BAL: bacterias ácido lácticas

BBB: barrera hematoencefálica, del inglés "blood-brain barrier"

BCRP: proteína de resistencia de cáncer de mama, del inglés "breast cancer resistance protein"

BDNF: factor neurotrófico derivado del cerebro, del inglés "brain derived neurotrophic factor"

BSA: albúmina sérica bovina, del inglés "bovine serum albumin"

BSH: hidrolasa de sales biliares, del inglés "bile salt hydrolase"

BSTFA: N,O-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida

BVMT-R: Prueba Breve de Memoria Visoespacial-Revisada, del inglés "Brief Visuospatial Memory Test-Revised"

Ca: calcio

Cas9: endonucleasa asociada a CRISPR, del inglés "CRISPR associated protein 9"

CDCl₃: deuterocloroformo

CFU: unidades formadoras de colonias, del inglés "colony-forming unit"

CGA: ácido clorogénico, del inglés "chlorogenic acid"

Chlor: clorpromazina

Chr: contenido de hemoglobina reticulocitaria

Clast: última concentración

Cmax: concentración máxima

CMV: cuerpos multivesiculares

COMT: catecol-*O*-metiltransferasa

CoQ: coenzima Q

CRC: cáncer colorrectal, del inglés "colorectal cancer"

CREA: creatinina

CRP: proteína C reactiva, del inglés "C reactive protein"

CT: umbral de ciclo, del inglés "cycle threshold"

CUR: curcumina

CYP: citocromo P450

Cyt: citocalasina D

Da: daltons

DAD: detector de barrido de diodos ultravioleta, del inglés "diode array detector"

DBP: presión arterial diastólica, del inglés "diastolic blood pressure"

DE: desviación estándar

DH-AVAs: dihidroaventramidas

DHBA: ácido dihidroxibenzoico, del inglés "dihydroxybenzoic acid"

DHD: dihidrodaidzeína

DHG: dihidrogenisteína

DHP: dihidropinosilvina

DHPAA: ácido dihidroxifenilacético, del inglés "dihydroxyphenylacetic acid"

DHPPA: ácido dihidroxifenilpropiónico, del inglés "dihydroxyphenylpropionic acid"

DHPV: dihidroxifenilvalerolactona, del inglés "dihydroxyphenylvalerolactone"

DHPVA: ácido dihidroxifenilvalérico, del inglés “dihydroxyphenylvaleric acid”

DHRSV: dihidroresveratrol

DHST: 3,4'-dihidroxi-*trans*-estilbeno

DMF: dilatación mediada por flujo

DMSO: dimetilsulfóxido

DSS: sulfato sódico de dextrano, del inglés “dextran sodium sulfate”

DTI: imágenes de tensor de difusión, del inglés "diffusion tensor imaging"

dUC: ultracentrifugación diferencial, del inglés “differential ultracentrifugation”

EA: ácido elágico, del inglés “ellagic acid”

ECV: enfermedad cardiovascular

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético, del inglés “ethylenediaminetetraacetic acid”

E-EVs: EVs con exosomas, del inglés "exosome-containing EVs"

EFSA: Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, del inglés “European Food Safety Authority”

EGCG: epigallocatequina galato

EIC: cromatograma de ion extraído, del inglés “extracted ion chromatogram”

ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, del inglés “enzyme linked immunosorbent assay”

EMA: Agencia Europea de Medicamentos, del inglés "European Medicines Agency".

EMV: voltaje del multiplicador de electrones, del inglés "electron multiplier voltage"

eNOS: sintasa endotelial de óxido nítrico, del inglés "endothelial nitric oxide synthase"

ENP: no productores de equol, del inglés "equol non-producers"

EP: productores de equol, del inglés "equol producers"

EPCAM: molécula de adhesión celular epitelial, del inglés "epithelial cellular adhesion molecule"

ER: receptor de estrógeno, del inglés "estrogen receptor"

ESCRT: complejos de clasificación endosomal necesarios para transporte, del inglés "endosomal sorting complexes required for transport"

ESI: ionización por electrospray, del inglés "electrospray ionization"

EtOAc: acetato de etilo

EtOH: etanol

ETs: elagitaninos

eV: electronvoltio

EVs: vesículas extracelulares, del inglés "extracellular vesicles"

EXOs: exosomas

EXOs-L: exosomas derivados de leche

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU., del inglés "Food and Drug Administration"

FDR: tasa de descubrimiento falso, del inglés "false discovery rate"

fMRI: imagen por resonancia magnética funcional, del inglés "functional magnetic resonance imaging"

GABA: ácido gamma-aminobutírico, del inglés "gamma aminobutyric acid"

GAE: equivalentes de ácido gálico, del inglés "gallic acid equivalents"

GC-MS: cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, del inglés "gas chromatography-mass spectrometry"

GGT: gamma glutamil transpeptidasa

GI: tracto gastrointestinal, del inglés "gastrointestinal tract"

GLOB: Globulina

GLP-1: péptido similar al glucagón 1, del inglés "glucagon-like peptide-1"

GLUC: glucosa

glur: glucurónido

GPR31: receptor 31 acoplado a proteína G, del inglés "G protein-coupled receptor 31"

GRAS: sustancia generalmente reconocida como segura, del inglés “generally recognized as safe”

GST: glutatión-S-transferasa

GTPasa: guanosina trifosfatasa

HA: ácido hipúrico, del inglés “hippuric acid”

HBA: ácido hidroxibenzoico, del inglés “hydroxybenzoic acid”

HCl: ácido clorhídrico

HDL: lipoproteína de alta densidad, del inglés “high-density lipoprotein”

HDLc: colesterol de lipoproteínas de alta densidad, del inglés “high-density lipoprotein cholesterol”

HGF: factor de crecimiento hepatocitario, del inglés “hepatocyte growth factor”

HHA: ácido hidroxihipúrico, del inglés “hydroxyhippuric acid”

HOMA-IR: modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina, del inglés “homeostatic model assessment of insulin resistance”

HP: hipotensores

HPAA: ácido hidroxifenilacético, del inglés “hydroxyphenylacetic acid”

HPLC: cromatografía líquida de alta resolución, del inglés “high performance liquid chromatography”

HPPA: ácido hidroxifenilpropiónico, del inglés “hydroxyphenylpropionic acid”

HPV: hidroxifenilvalerolactona, del inglés “hydroxyphenylvalerolactone”

HPVA: ácido hidroxifenilvalérico, del inglés “hydroxyphenylvaleric acid”

IBD: enfermedad inflamatoria intestinal, del inglés “inflammatory bowel disease”

IC: intervalo de confianza

IDLc: colesterol de lipoproteínas de densidad intermedia, del inglés “intermediate-density lipoprotein cholesterol”

IL: interleuquina

ILV: vesículas intraluminales, del inglés “intraluminal vesicles”

IMC: índice de masa corporal

iNOS: sintasa inducible de óxido nítrico, del inglés “inducible nitric oxide synthase”

ISEV: Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares, del inglés "International Society for Extracellular Vesicles"

ISI: índice de sensibilidad a la insulina

IsoUro-A: isourolitina A

IT: trampa de iones, del inglés “ion trap”

IU: Unidad Internacional, del inglés "international unit"

IUGR: restricción del crecimiento intrauterino, del inglés "intrauterine growth restriction"

IUPAC: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, del inglés “International Union of Pure and Applied Chemistry”

J: constantes de acoplamiento

KEGG: Enciclopedia de Genes y Genomas de Kyoto, del inglés "Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes"

LBP: proteína de unión de lipopolisacáridos, del inglés “lipopolysaccharide binding protein”

LDA: análisis discriminante lineal, del inglés “linear discriminant analysis”

LDH: lactato deshidrogenasa

LDL: lipoproteína de baja densidad, del inglés "low-density lipoprotein"

LDLc: colesterol de lipoproteínas de baja densidad, del inglés “low-density lipoprotein cholesterol”

LDLc-ox: colesterol de lipoproteínas de baja densidad oxidado, del inglés “oxidized low-density lipoprotein cholesterol”

LEfSe: análisis discriminante lineal con tamaño del efecto, del inglés “linear discriminant analysis effect size”

LL: hipolipemiantes, del inglés “lipid-lowering drugs”

LNP: no productores de lunularina, del inglés "lunularin non-producers"

LOD: límite de detección, del inglés "limit of detection"

LOQ: límite de cuantificación, del inglés "limit of quantification"

LP: productores de lunularina, del inglés "lunularin producers"

LPO: peróxido de lípidos, del inglés "lipid peroxide".

LPS: lipopolisacáridos

LUNU: lunularina

m/z: relación masa/carga

MaAslin2: asociación multivariable del microbioma con modelos lineales 2, del inglés "microbiome multivariable association with linear models 2"

MC: clúster de metabotipos, del inglés "metabotype cluster"

MCA: análisis de correspondencias múltiples, del inglés "multiple correspondence analysis"

MCH: hemoglobina corpuscular media, del inglés "mean corpuscular hemoglobin"

MCHC: concentración de hemoglobina corpuscular media, del inglés "mean corpuscular hemoglobin concentration"

MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos-1, del inglés "monocyte chemoattractant protein-1"

MCV: volumen corpuscular medio, del inglés "mean corpuscular volume"

MCVr: volumen corpuscular medio de reticulocitos, del inglés "mean reticulocyte corpuscular Volumen"

Me4Si: tetrametilsilano

MENA: análisis de redes ecológicas moleculares, del inglés "molecular ecological network analysis"

MeOH: metanol

MHz: megahercio

miARN: micro ARN

MISEV: Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares, del inglés "International Society for Extracellular Vesicles"

Mon: monensina

MPC: componente medio de plaquetas, del inglés "mean platelet component"

MPM: masa media de plaquetas, del inglés "mean platelet mass"

MPV: volumen medio de plaquetas, del inglés "mean platelet volume"

MRI: imagen por resonancia magnética, del inglés "magnetic resonance imaging"

MRP: proteína de resistencia a múltiples fármacos, del inglés "multidrug resistance protein"

MS: espectrometría de masas, del inglés "mass spectrometry"

MTs: metiltransferasas

MTT: bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, del inglés "(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide"

NaCl: cloruro de sodio

NaOH: hidróxido de sodio

ND: no detectado

NF- κ B: factor nuclear κ B, del inglés "nuclear factor κ B"

NGS: secuenciación de nueva generación, del inglés "next-generation sequencing"

NIH: Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América, del inglés "National Institute of Health"

NLRP3: proteína 3 similar al receptor de tipo NLR, del inglés "NLR family pyrin domain containing 3"

nM: nanomolar

NO: óxido nítrico, del inglés "nitric oxide"

NOD: receptores nucleotídicos de oligomerización, del inglés "nucleotide-binding oligomerization domain"

Nrf2: factor nuclear eritroide similar al factor 2, del inglés “nuclear factor erythroid 2-related factor”

NTA: análisis de seguimiento de nanopartículas

ODMA: *O*-desmetilangolensina

OR: razón de probabilidades, del inglés “odd ratio”

OTU: unidad taxonómica operativa, del inglés “operational taxonomic unit”

P: fósforo

PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1, del inglés "plasminogen activator inhibitor type-1"

PBLE: efecto tipo prebiótico, del inglés "prebiotic-like effect"

PBS: tampón fosfato salino, del inglés “phosphate-buffered saline”

PCA: análisis de componentes principales, del inglés “principal component analysis”

PCoA: análisis de coordenadas principales, del inglés "principal coordinate analysis"

PCR: reacción en cadena de la polimerasa, del inglés “polymerase chain reaction”

PCT: volumen plaquetario total, del inglés "plateletcrit"

PDW: ancho de distribución de plaquetas, del inglés "platelet distribution width"

PE: extracto de granada, del inglés "pomegranate extract"

PERMANOVA: análisis multivariado permutacional, del inglés "permutational multivariate analysis"

PGC1 α : coactivador 1-alfa del receptor activado por proliferadores de peroxisomas, del inglés "peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha"

PG: prostaglandina

Pgp: glicoproteína de permeabilidad, del inglés “permeability glycoprotein”

pH: potencial de hidrógeno.

Phe: fenilarsina

Pi: conectividad entre módulos, del inglés "among-module connectivity"

PICRUST: investigación filogenética de comunidades mediante la reconstrucción de estados no observados, del inglés "phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states"

PINO: pinosilvina

PJ: jugo de granada, del inglés "pomegranate juice"

PLT: recuento de plaquetas, del inglés "platelet count"

PPAR: receptor activado por proliferadores de peroxisomas, del inglés "peroxisome proliferator-activated receptor"

ppm: partes por millón

P-PST: sulfotransferasas fenólicas, del inglés "phenolic sulfotransferases".

PROT: proteína total

PTA: ácido fosfotúngstico hidratado, del inglés "phosphotungstic acid hydrate"

PTGES: prostaglandina E sintetasa

PVA: ácido fenilvalérico, del inglés "phenylvaleric acid"

PVDF: fluoruro de polivinilo, del inglés "polyvinylidene fluoride"

PWV: velocidad de onda de pulso, del inglés "pulse-wave velocity"

qPCR: reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real a tiempo real, del inglés "quantitative PCR"

QPS: presunción cualitativa de seguridad, del inglés "qualitative presumption of safety"

QQQ: espectrómetro de masas con triple cuadrupolo

QTOF: cuadrupolo de tiempo de vuelo, del inglés "quadrupole time of flight"

RAVLT: test de aprendizaje verbal de Rey, del inglés "rey auditory verbal learning test".

RBP4: proteína de unión al retinol-4, del inglés "retinol-binding protein-4"

RCT: ensayo aleatorio controlado, del inglés "randomized controlled trial"

RDW: ancho de distribución de eritrocitos, del inglés "erythrocyte distribution width"

RMN: resonancia magnética nuclear

ROS: especies reactivas de oxígeno, del inglés “reactive oxygen species”

RSV: *trans*-resveratrol

RT: tiempo de retención, del inglés "retention time"

SAM: S-adenosil metionina

SBP: presión arterial sistólica, del inglés "systolic blood pressure".

SD: desviación estándar, del inglés "standard deviation"

SDG: secoisolariciresinol diglucósido

SDS-PAGE: electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio, del inglés "sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis"

SEC: cromatografía de exclusión por tamaño molecular, del inglés "size exclusion chromatography".

SGLT-1: transportador de glucosa dependiente de sodio, del inglés “sodium-glucose linked transporter”

siARN: ARN interferente pequeño, del inglés "small interfering RNA"

sICAM-1: molécula de adhesión intercelular soluble-1, del inglés “soluble intercellular adhesion molecule-1”

SIM: seguimiento de ion único, del inglés "selected ion monitoring"

SIRT1: sirtuina 1

SNARE: proteína de fijación NSF soluble, del inglés "soluble NSF attachment protein"

SNPs: polimorfismos de un sólo nucleótido, del inglés “single-nucleotide polymorphisms”

SOD: superóxido dismutasa

sulf: sulfato

SULTs: sulfotransferasas

sVCAM-1: molécula de adhesión vascular soluble-1, del inglés "soluble vascular cell adhesion molecule-1"

T_{1/2}: tiempo de concentración media

T4: tiroxina

TAP: potencial antioxidante total, del inglés "total antioxidant potential"

Tchol: colesterol total, del inglés "total cholesterol"

TEAC: actividad equivalente de trolox, del inglés "trolox equivalent antioxidant capacity"

TEM: microscopía electrónica de transmisión, del inglés "transmission electron microscopy"

TG: triglicéridos

TLR: receptores tipo Toll, del inglés "Toll-like receptors".

TMAO: *N*-óxido de trimetilamina, del inglés "trimethylamine *N*-oxide".

Tmax: tiempo de concentración máxima

TMCS: trimetilclorosilano

TMT-B: test del trazo-B, del inglés "trail making test"

TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa, del inglés "tumor necrosis factor alpha"

TSG101: gen de susceptibilidad tumoral 101, del inglés "tumor susceptibility gene 101"

TWIN-SHIME: Simulador del Ecosistema Microbiano Intestinal Humano, del inglés "The Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem"

UC: ultracentrifugación

UDP: uridina difosfato, del inglés "uridine diphosphate"

UGTs: uridina-5'-difosfato glucuronosiltransferasas

UM: metabotipo de urolitinas, del inglés "urolithin metabotype"

UPLC: cromatografía líquida de ultra eficiencia, del inglés "ultra performance liquid chromatography"

UROS: urolitinas

UV-Vis: ultravioleta-visible

ABREVIATURAS

VLDLc: colesterol de lipoproteínas de muy baja densidad, del inglés “very low-density lipoprotein cholesterol”

vs: versus

w/v: relación peso/volumen, del inglés "weight/volumen"

WAM: medio anaeróbico Wilkins-Chalgren, del inglés "Wilkins-Chalgren anaerobe medium"

WC: circunferencia de la cintura, del inglés "waist circumference"

WHO: Organización Mundial de la Salud, del inglés “World Health Organizarion”

WO: periodo de lavado, del inglés "wash-out"

Zi: conectividad dentro de módulo, del inglés "within-module connectivity"

μM: micromolar

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	3
1. Alimentación y salud	3
2. Compuestos fenólicos	7
2.1 Clasificación	9
2.1.1 Flavonoides	11
2.1.2 Compuestos no flavonoides	13
2.1.3 Ácidos fenólicos	16
2.2 Metabolismo, biodisponibilidad y transporte humano	17
2.2.1 Características particulares del metabolismo y biodisponibilidad de los (poli)fenoles	26
2.3 Distribución en tejidos	30
2.4 Efecto de los (poli)fenoles en la salud humana	33
3. Microbiota humana	39
3.1 Microbiota intestinal	42
3.2 Microbiota intestinal y el efecto de la dieta	45
3.3 Modulación de la microbiota intestinal por los (poli)fenoles	47
3.4 Metabolismo microbiano de los (poli)fenoles	50
3.5 Metabolitos microbianos derivados de los (poli)fenoles	55
3.6 Variabilidad interindividual en el metabolismo de los (poli)fenoles	64
4. Metabotipos de (poli)fenoles asociados a la microbiota intestinal	67
4.1 Metabotipos de urolitinas	69
4.1.1 Microorganismos intestinales modulados e implicados en el metabolismo de elagitaninos	71
4.1.2 Metabolitos derivados del metabolismo de los elagitaninos y sus efectos en la salud	76
4.2 Metabotipos de isoflavonas	79

4.2.1 Microorganismos intestinales modulados e implicados en el metabolismo de isoflavonas.....	81
4.2.2 Metabolitos derivados del metabolismo de isoflavonas y su efecto en la salud.....	84
4.3 Metabolismo del resveratrol	87
4.3.1 Microorganismos intestinales modulados e implicados en el metabolismo de resveratrol.....	89
4.3.2 Metabolitos derivados del metabolismo del resveratrol y su efecto en la salud	92
5. Personalización de metabotipos y mejora de la biodisponibilidad de (poli)fenoles y de sus metabolitos microbianos	95
5.1 Transporte: vesículas extracelulares y exosomas	96
5.1.1 Vesículas extracelulares	96
5.1.2 Exosomas	99
5.1.3 La biogénesis y heterogeneidad de los exosomas	101
5.1.4 Estandarización y aislamiento de vesículas extracelulares	103
5.1.5 Métodos de aislamiento de exosomas	105
5.1.6 Aplicaciones de las vesículas extracelulares y exosomas	108
5.2 Probióticos, prebióticos, postbióticos y simbióticos	113
5.2.1 Probióticos	113
5.2.2 Prebióticos	117
5.2.2.1 Efecto prebiótico de los (poli)fenoles.....	121
5.2.3 Postbióticos y simbióticos	122
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	129
CAPÍTULO 3: MAIN DRIVERS OF (POLY)PHENOL EFFECTS ON HUMAN HEALTH: METABOLITES PRODUCTION AND (OR) GUT MICROBIOTA-ASSOCIATED METABOTYPES?.....	137
CAPÍTULO 4: 4-HYDROXYDIBENZYL: A NOVEL METABOLITE FROM THE HUMAN GUT MICROBIOTA AFTER CONSUMING RESVERATROL	141
CAPÍTULO 5: LUNULARIN PRODUCERS VERSUS NON-PRODUCERS: NOVEL HUMAN	

METABOTYPES ASSOCIATED WITH THE METABOLISM OF RESVERATROL BY THE GUT MICROBIOTA	145
CAPÍTULO 6: THE GUT BACTERIA INVOLVED IN ELLAGIC ACID METABOLISM TO YIELD HUMAN UROLITHIN METABOTYPES REVEALED.....	149
CAPÍTULO 7: <i>IN VIVO</i> ADMINISTRATION OF GUT BACTERIAL CONSORTIA REPLICATES UROLITHIN METABOTYPES A AND B IN A UROLITHIN-NON-PRODUCING-RAT MODEL	153
CAPÍTULO 8: EXOSOME-CONTAINING EXTRACELLULAR VESICLES CONTRIBUTE TO THE TRANSPORT OF RESVERATROL METABOLITES IN THE BLOODSTREAM: A HUMAN PHARMACOKINETIC STUDY	157
CAPÍTULO 9: ANEXOS: OTROS TRABAJOS DERIVADOS DE LA TESIS DOCTORAL.....	161
9.1 ELLAGITANNINS, UROLITHINS, AND NEUROPROTECTION: HUMAN EVIDENCE AND THE POSSIBLE LINK TO THE GUT MICROBIOTA	161
9.2 UNVEILING METABOTYPE CLUSTERING IN RESVERATROL, DAIDZEIN, AND ELLAGIC ACID METABOLISM: PREVALENCE, ASSOCIATED GUT MICROBIOMES, AND THEIR DISTINCTIVE MICROBIAL NETWORKS	163
9.3 MILK-DERIVED EXOSOMES AS NANOCARRIERS TO DELIVER CURCUMIN AND RESVERATROL IN BREAST TISSUE AND ENHANCE THEIR ANTICANCER ACTIVITY	165
CAPÍTULO 10: DISCUSIÓN GENERAL.....	169
CAPÍTULO 11: CONCLUSIONES	197
REFERENCIAS	203

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. Alimentación y Salud

La alimentación es uno de los factores medio ambientales que más impactan sobre el estatus de salud de los seres humanos. Los patrones dietéticos asociados a un peor estado de salud se caracterizan por un alto consumo de alimentos ricos en carbohidratos refinados, grasas saturadas y sal, junto con un bajo consumo de vegetales. Los alimentos de origen vegetal abarcan una extensa y diversa variedad de frutas, hortalizas, cereales y derivados (vino, café, té, aceite de oliva, etc.) que varían en su aporte energético, contenido de nutrientes y otros compuestos no nutricionales, pero con efectos saludables. Este tipo de alimentos, más allá de satisfacer las necesidades nutricionales básicas de la población, pueden promover la salud debido a un abanico de actividades preventivas frente a estrés oxidativo, inflamación, neurodegeneración, cáncer, etc., asociándose su consumo con una menor incidencia de enfermedades crónico-degenerativas. Estas enfermedades son responsables de un aumento en la mortalidad y morbilidad a edades más tempranas, lo que reduce la esperanza de vida y aumenta la prevalencia de discapacidad y de diversas condiciones clínicas desfavorables (Wallace et al., 2020).

Para lograr una ingesta de alimentos óptima para el crecimiento, desarrollo, salud y longevidad, es necesaria una dieta variada y equilibrada. Por ello, en los países desarrollados, se recomiendan las dietas ricas en alimentos vegetales. De hecho, un mayor consumo de frutas y hortalizas es la base de las pautas dietéticas desarrolladas en más de un centenar de países de todo el mundo, adaptadas a la cultura culinaria,

hábitos alimentarios, situación nutricional o disponibilidad de alimentos. Esta medida se debe a que el 88% de los países en el mundo sufren una seria malnutrición presente en diferentes formas, entre las que se encuentran: a) la obesidad y las enfermedades relacionadas como diabetes *mellitus* tipo II, enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer; b) las deficiencias de micronutrientes y; c) la desnutrición crónica o aguda (FAO, 2023). Según la evidencia actual, el mayor efecto para la prevención de las enfermedades cardiovasculares se consigue con un consumo de frutas y hortalizas de alrededor de 800 g por día, es decir, aproximadamente 5 porciones diarias de estos alimentos (Zhan et al., 2017; Wallace et al., 2020).

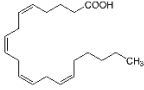
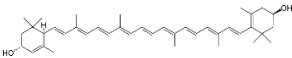
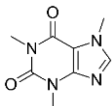
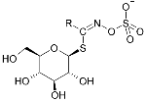
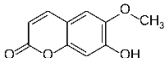
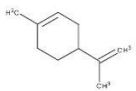
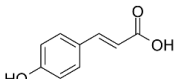
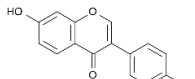
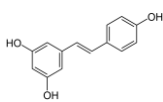
Como se ha comentado, numerosos estudios epidemiológicos han observado una relación inversa entre el consumo de alimentos vegetales y enfermedades crónico-degenerativas, como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, metabólicas y una disminución en la mortalidad por todas las causas (Hertog, 1996; Sahyoun et al., 1996; Whiteman et al., 1999; Sauvaget et al., 2003; Boffetta et al., 2010; Wang et al., 2014; Aune et al., 2017). Diversos estudios han identificado el potencial cardioprotector de una variedad de alimentos vegetales, como patata, soja, sésamo, tomate, cebolla, apio, brócoli, y espárrago, entre otros. Se ha demostrado que los alimentos vegetales poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiplaquetarias, además de ser capaces de regular la presión arterial, los niveles de glucosa en plasma, el perfil lipídico y modular actividades enzimáticas y vías de señalización implicadas en diversas patologías (Tang et al., 2017). Estudios recientes han demostrado de manera robusta y con un número alto de participantes que el consumo suficiente de alimentos vegetales reduce y previene el riesgo de desarrollar multitud de enfermedades. En conjunto, estos estudios respaldan

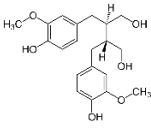
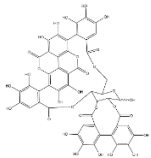
las recomendaciones de salud pública sobre la importancia de incrementar el consumo de frutas y hortalizas, fuentes abundantes de compuestos bioactivos en la dieta, para promover la salud cardiovascular, prevenir ciertos tipos de cáncer y reducir el riesgo de disfunciones metabólicas (Turati et al., 2015, Zhan et al., 2017, Wallace et al., 2020).

Los alimentos vegetales, además de proporcionar suficiente fibra y micronutrientes esenciales, son una fuente importante de compuestos bioactivos de escaso o nulo valor nutricional pero que actúan como sustancias protectoras en la prevención de múltiples condiciones patológicas. Además, estos compuestos pueden contribuir a las características organolépticas de los alimentos vegetales, como color, sabor, aroma y textura. El instituto nacional de salud de los Estados Unidos de América (NIH) define a los compuestos bioactivos de los alimentos como *“constituyentes de alimentos o suplementos dietéticos, distintos de los necesarios para satisfacer las necesidades nutricionales humanas básicas, pero que tienen un impacto en el estado de salud”* (NIH, 2004). Estos “fitoquímicos” son importantes por su actividad biológica frente a enfermedades crónico-degenerativas (Zhan et al., 2017). Por ello, organizaciones como la Alianza Nacional de Frutas y Hortalizas de Estados Unidos y el informe científico del Comité Asesor de Guías Alimentarias 2015-2020, enfatizan la contribución de estos compuestos bioactivos para la promoción de la salud (DGAC, 2015; USDHHS & USDA, 2015; Wallace et al., 2015). Estos compuestos se agrupan en las siguientes categorías en función de su estructura química: ácidos orgánicos y lípidos, compuestos organosulfurados, terpenoides, carotenoides, cumarinas, compuestos nitrogenados, alcaloides y compuestos fenólicos (**Tabla 1**) (Liu, 2004; Scalbert et al., 2011). Los compuestos fenólicos son, probablemente, el grupo más relevante cuali-cuantitativo de

la dieta dentro del contexto de la salud humana. En la presente Tesis Doctoral, nos centraremos en este grupo de compuestos.

Tabla 1. Clasificación de compuestos bioactivos presentes en alimentos vegetales.

CLASE	COMPUESTOS	ESTRUCTURA (ejemplo)
Ácidos orgánicos y lípidos	Ácidos orgánicos de cadena corta, ácidos grasos, alcanos	
Carotenoides	α -caroteno, β -caroteno, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina, licopeno	
Alcaloides	Metilxantinas, protoalcaloides, alcaloides de poliamina, peptídicos y pseudoalcaloides	
Compuestos nitrogenados	Aminoácidos no protéicos, aminas, glucósidos cianogénicos, indoles, lectinas, péptidos y polipéptidos	
Cumarinas	Escopoletina, umbeliferona, herniarina, furanocumarinas	
Compuestos organosulfurados	Isotiocianatos, glucosinolatos, compuestos de sulfuro de alilo	
Terpenoides	Mono-,di-,tri-, sesqui-terpenoides, fitoesteres	
Compuestos fenólicos		
Ácidos fenólicos	Ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos	
Flavonoides	Flavonoles, flavonas, flavan-3-oles, flavanonas, antocianinas, Isoflavonas	
Estilbenos	<i>trans</i> -Resveratrol, <i>trans</i> -piceido, <i>trans</i> -piceatanol, <i>trans</i> -oxiresveratrol, etc.	

Lignanos	Secoisilariciresinol, pinoresinol, lariciresinol, matairesinol, isolariciresinol	
Taninos	Taninos hidrolizables y condensados, florotaninos	

Adaptada de Liu, 2004 y Scalbert et al., 2011.

2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son constituyentes no-nutrientes, abundantes en la dieta cuando hay un consumo suficiente de alimentos vegetales. Cada vez hay más estudios que resaltan su papel en la prevención de diversas enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. Los compuestos fenólicos son abundantes en frutas, hortalizas, té, café, semillas, cacao, frutos secos y legumbres, habiéndose identificado alrededor de 10.000 compuestos con estructuras químicas diferentes. Estos compuestos se caracterizan por una estructura molecular particular, que tiene como elemento común al menos un benceno con un grupo hidroxilo (que sería el fenol, el compuesto fenólico más simple). Además, su diversidad aumenta debido a que es posible su unión a otras moléculas como azúcares o ácidos orgánicos (Manach et al, 2004).

El efecto de los compuestos fenólicos en la salud depende en gran medida de su biodisponibilidad, que varía significativamente entre los distintos tipos de compuestos. Por este motivo, es importante comprender en profundidad las particularidades y diferencias en la biodisponibilidad de los diversos compuestos fenólicos dietéticos para

identificar aquellos que tienen mayor probabilidad de ejercer efectos protectores para la salud puesto que, además, los más abundantes en nuestra dieta no siempre presentan una alta biodisponibilidad (Bravo, 1998).

Los polifenoles son compuestos fenólicos con más de un grupo fenólico en su estructura química y muchos son producidos por las plantas como respuesta defensiva contra el ataque de fitopatógenos y la radiación ultravioleta (Beckman, 2000). En general, de aquí en adelante, nombramos “(poli)fenoles” a todos los compuestos fenólicos con uno o más grupos fenólicos. Desde hace décadas se ha hablado sobre los beneficios potenciales de los (poli)fenoles de los vegetales en la salud humana (Shahidi & Naczk, 1995; Pandey y Rizvi, 2009). Se han identificado más de 8.000 (poli)fenoles en diversas especies de plantas, encontrándose conjugados principalmente con residuos de azúcares unidos al grupo hidroxilo, y también a un carbono aromático. Además, pueden asociarse con lípidos, aminas, ácidos carboxílicos y orgánicos (Kondratyuk & Pezzuto, 2004).

Los (poli)fenoles están presentes en nuestra alimentación a través de la ingesta de frutas, hortalizas, cereales, semillas y bebidas de origen vegetal. Por ejemplo, podemos obtener alrededor de 200-300 mg de (poli)fenoles por cada 100 g de alimentos como bayas, cerezas, uvas, manzanas y peras, y unos 100 mg en una copa de vino tinto o una taza de café o té (Scalbert et al., 2005; Spencer et al., 2008). Los (poli)fenoles son los antioxidantes más abundantes en nuestra dieta, lo que ha despertado un gran interés sobre su presencia en los alimentos y efecto preventivo frente al desarrollo de enfermedades (Scalbert & Williamson, 2000; Rajha et al., 2022). Las propiedades biológicas de los (poli)fenoles, como la actividad antioxidante, biodisponibilidad e

interacciones específicas con enzimas y receptores celulares están influenciadas por su estructura química. Por lo tanto, para comprender cómo impactan los principales (poli)fenoles en la salud humana es indispensable conocer su origen dietético, su biodisponibilidad, los factores que le afectan, así como su naturaleza y las cantidades consumidas según los distintos hábitos alimenticios de la población (Scalbert & Williamson, 2000).

2.1 Clasificación

La clasificación de los (poli)fenoles se puede realizar según dos criterios principales: el número de anillos fenólicos que contienen y los elementos estructurales que conectan estos anillos entre sí. En cuanto a los elementos estructurales, existen diferentes tipos de enlaces que unen los anillos fenólicos, como los enlaces carbono–oxígeno, carbono–carbono y enlaces dobles carbono=carbono. Estos enlaces desempeñan un papel importante en la diversidad de estructuras encontradas en estos compuestos, lo cual tiene un efecto directo en la variabilidad de sus actividades biológicas y beneficios para la salud. Los (poli)fenoles se pueden clasificar principalmente en tres clases mayoritarias: flavonoides, no flavonoides y ácidos fenólicos (Bravo, 1998; Manach et al., 2004; Pandey y Rizvi, 2009) (**Figura 1**). Estas clases se subdividen en diferentes subclases como se describe a continuación.

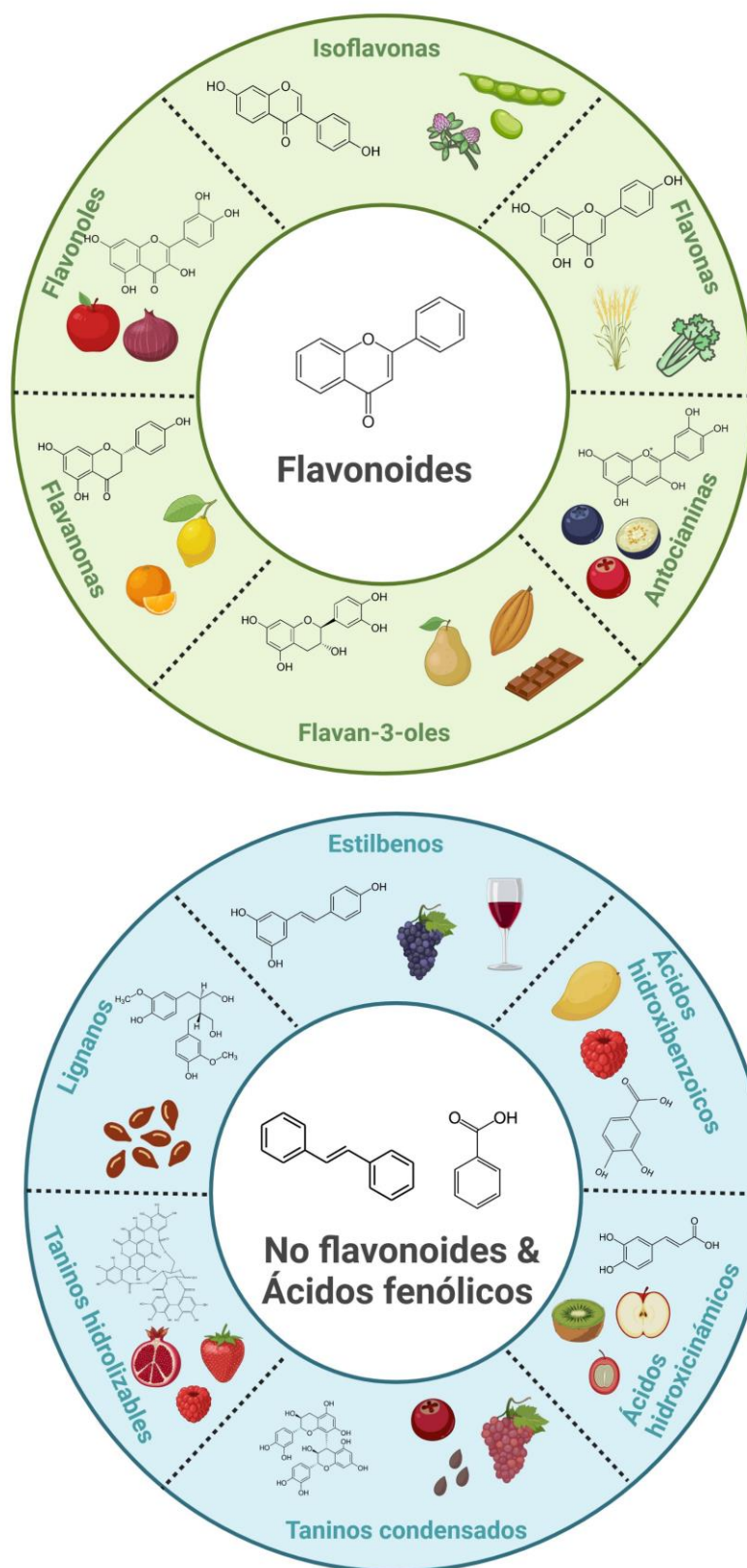


Figura 1. Clasificación de los compuestos fenólicos.

2.1.1 Flavonoides

Se caracterizan por una estructura básica que consiste en dos anillos aromáticos unidos junto con un tercer anillo heterociclo oxigenado por tres átomos de carbono. Los flavonoides son la clase más extensa y más estudiada de (poli)fenoles, muchos de ellos responsables de los colores llamativos de hojas, frutas y flores (Arts et al., 2005). El anillo A generalmente se sintetiza por la ruta del acetato y deriva de una molécula de floriglucinol o resorcinol, mientras que el anillo B proviene de la ruta del shikimato (Harborne & Mabry, 1982). Los flavonoides se dividen en seis subclases según el tipo de heterociclo que presenten: antocianinas, isoflavonas, flavonoles, flavonas, flavanonas y flavan-3-oles (Shen et al., 2022).

- **Antocianinas:** Son glicósidos de antocianidinas (pelargonidina, malvidina, cianidina, peonidina, delfinidina y petunidina). Las antocianidinas tienen una estructura de 2-fenilbenzopirilio con grupos metoxilo e hidroxilo en diferentes posiciones (Jackman & Smith, 1996; Pascual-Teresa & Sánchez-Ballesta, 2008). Se han identificado más de 300 antocianinas diferentes (Krga & Milenkovic, 2019). Son responsables de los colores púrpura, violeta, azul, y rojo de frutas y hortalizas. Su ingesta diaria puede llegar a ser superior a 200 mg cuando se consumen bayas y otras frutas con regularidad (Gross, 1987; Prior & Wu, 2006), y los principales alimentos que las contienen proceden de alimentos vegetales de las familias *Vitaceae*, como la uva, y *Rosaceae*, como fresa, mora, manzana, melocotón, cereza, ciruela, frambuesa, etc. Otros alimentos que contienen antocianinas son las grosellas, berenjena, col roja y arándanos.

- **Isoflavonas:** En las isoflavonas, el anillo B de benceno se une a la posición 3 del anillo C a diferencia del resto de flavonoides que se unen a la posición 2 del anillo C. Las isoflavonas son abundantes en la soja, especialmente en forma de tempeh o como fruto seco, así como en el trébol rojo (Sarkar & Li, 2002; Yuan et al., 2007). Debido a su estructura química, con cierta similitud a algunos estrógenos, estos compuestos se consideran moduladores selectivos naturales de los receptores estrogénicos, ya que pueden unirse a los receptores ER α y ER β (Messina et al., 2000; Cornwell et al., 2004; Setchell et al., 2002a; Linford & Dorsa, 2002; Křížová et al., 2019). Las isoflavonas más conocidas se encuentran en la soja, como genisteína, daidzeína y gliciteína, junto con sus glucósidos (genistina, daidzina y glicitina, respectivamente), además de otros derivados conjugados con ácidos orgánicos (Křížová et al., 2019).
- **Flavonoles:** Los flavonoles tienen estructura de 3-hidroxi-2-fenilcromen-4-ona), y su diversidad proviene de las diferentes posiciones de los grupos hidroxilo (-OH). Las principales fuentes alimentarias de los flavonoles, como quercetina, miricetina y kaempferol, incluyen el brócoli, manzanas, cebollas, vino tinto y té (Hollman & Katan, 1999). El consumo diario en poblaciones occidentales se estima entre 20 y 50 mg/día (Hollman & Katan, 1999; Chagas et al., 2022).
- **Flavonas:** En comparación con los flavonoles, estos compuestos se encuentran en menor cantidad en frutas y verduras. Entre las principales flavonas se encuentran la apigenina y glicósidos de luteolina, siendo el trigo, mijo, apio y perejil, alimentos donde se han identificado en cantidades relevantes (King, 1962; Feng

et al., 1988). La nobiletina, tangeretina y sinensetina son un tipo de flavonas polimetoxiladas, y son los flavonoides más hidrofóbicos que se encuentran en la piel de los cítricos (Vajdi & Farhangi, 2023).

- **Flavanonas:** Las flavanonas tienen una estructura 2,3-dihidro-2-fenilcromen-4-ona. Las frutas cítricas, como naranjas y limones, son las principales fuentes de estos compuestos, que incluyen la naringenina y hesperidina. Las flavanonas suelen presentarse en forma de los glicósidos rutinósido y neohesperidósido. Los glucósidos se encuentran en algunas especies de menta y cítricos, como el pomelo y la naranja dulce, aunque son pocos comunes (Tomás-Barberán & Clifford, 2000a; Ávila-Gálvez et al., 2021a).
- **Flavan-3-oles:** Forman un grupo muy complejo de (poli)fenoles que comprende compuestos más simples como catequina, epicatequina, galocatequina y epigalocatequina, que pueden unirse y formar taninos condensados (polímeros de procianidinas), incluyendo todos los diferentes intermediarios oligoméricos. Las principales fuentes de estos (poli)fenoles en la dieta son el cacao, vino, té y diversas frutas (Déprez et al., 2000; Rios et al., 2003; Rechner et al., 2004; Di Pede et al., 2023).

2.1.2 Compuestos no flavonoides

Incluyen compuestos con varios anillos fenólicos, pero sin la estructura característica de los flavonoides. Dentro de estos compuestos se encuentran los lignanos, estilbenos y taninos.

- **Lignanos:** Contienen dos grupos fenoles formados por la dimerización de dos residuos de ácido cinámico. Son compuestos que tienen actividad estrogénica débil, por lo que se les considera fitoestrógenos. El más abundante y común es el secoisolariciresinol, presente principalmente en forma de diglucósido, en semillas de lino, que también contienen cantidades pequeñas de matairesinol. Otros lignanos dietéticos son lariciresinol, pinoresinol, siringaresinol, arctigenina y sesamina (Lampe et al., 2006; Senizza et al., 2020).
- **Estilbenos:** Son fitoalexinas con propiedades antifúngicas que producen ciertas plantas como respuesta a un estrés biótico o abiótico. Los estilbenos se caracterizan por la presencia de un núcleo *trans*- o *cis*- 1,2-difeniletileno y pueden ser divididos en dos categorías: monoméricos y poliméricos. Los estilbenos se encuentran en un grupo limitado y heterogéneo de plantas debido a que la enzima estilbeno sintasa no se expresa comúnmente. Sin embargo, hay más de 400 estilbenos identificados (Shen et al., 2009), si bien los más abundantes en la dieta son el resveratrol (RSV) (y su glucósido piceido), piceatanol (y su glucósido astringina), pteroesstilbeno, oxiresveratrol, dímeros como pallidol, ϵ -viniferina y δ -viniferin, y dos tetrámeros (hopeafenol e isohopeafenol) (El Khawand et al., 2018). RSV es uno de los estilbenos más frecuentes en la dieta y más estudiado, encontrándose en el vino tinto, uvas, arándanos, cacahuates y los productos derivados de estos alimentos, especialmente si la planta ha sufrido algún tipo de daño o infección, pero en general, la cantidad de los estilbenos en la dieta es escaso (Tomé-Carneiro et al., 2013a; Teka et al., 2022).

- **Taninos:** Son compuestos que se caracterizan por tener un peso molecular relativamente alto, existiendo taninos con una masa molecular de hasta 30.000 daltons. Pueden formar complejos insolubles con proteínas y carbohidratos, y son moléculas altamente hidroxiladas, responsables de la astringencia de ciertos alimentos debido a su capacidad para precipitar las proteínas salivales. Los taninos pueden ser subgrupados en dos grupos mayoritarios: taninos hidrolizables y taninos condensados (Würsch et al., 1984; Bravo, 1998; Sallam et al., 2021). También podemos encontrar un tercer grupo más pequeño presente solamente en las algas marinas marrones llamados florotaninos (Ragan & Glombitza, 1986; Kumar et al., 2022).
 - **Taninos hidrolizables:** Los taninos hidrolizables consisten en la condensación de dímeros de ácido gálico, llamados ácido hexahidroxidifénico, esterificado principalmente con glucosa (Porter, 1989), y como lo indica su nombre, se pueden hidrolizar con ácidos, bases y por acción enzimática. Pueden subdividirse en elagitaninos, derivados del ácido hexahidroxidifénico y nombrados a partir de la lactona de ácido elágico, y galotaninos, derivados del ácido gálico (Bravo, 1998; Sallam et al., 2021). La ingesta de elagitaninos, según regiones, se debe principalmente al consumo de nueces, fresas, frambuesas, granadas, moras y té. Una fracción de los elagitaninos ingeridos se hidroliza en el intestino, liberando ácido elágico (García-Villalba et al., 2022).
 - **Taninos condensados:** También conocidos como proantocianidinas, son polímeros de alto peso molecular formados por unidades monoméricas

de flavan-3-oles (catequina y epicatequina). Se encuentran en alimentos como arándanos rojos, uva, té y cacao. Son moléculas difíciles de analizar por su naturaleza altamente polimerizada. Las proantocianidinas pueden llegar a presentarse como polímeros de hasta más de cincuenta monómeros (Würsch et al., 1984). Los métodos cromatográficos usados para el análisis de proantocianidinas se pueden dividir en aquellos que se usan para analizar proantocianidinas intactas y los que se usan tras hidrólisis ácida, especialmente en presencia de floroglucinol (floroglucinolisis) que proporciona información sobre la composición de las subunidades, así como de la ubicación del enlace interflavonoide (Kennedy & Jones, 2001; Arapitsas et al., 2021).

2.1.3 Ácidos fenólicos

Se dividen en dos grupos: derivados del ácido cinámico y del ácido benzoico. Se encuentran en diversos alimentos, siendo los ácidos hidroxicinámicos, como los ácidos cafeico, ferúlico, *p*-cumárico, y sinápico, más comunes que los hidroxibenzoicos. Los ácidos hidroxibenzoicos pueden formar parte de estructuras más complejas, como los elagitaninos y galotaninos, dentro del grupo de los taninos hidrolizables (Clifford & Scalbert, 2000). El ácido hidroxibenzoico es abundante en alimentos como la cebolla, melón, mango, frutos rojos y rábano negro, mientras que el té es rico en ácido gálico (Shahidi & Naczki, 1995; Kumar & Goel, 2019; Tomás-Barberán & Clifford, 2000b).

Los principales ácidos hidroxicinámicos son los ácidos ferúlico, cafeico, sinápico y *p*-cumárico, principalmente esterificados y glicosilados con ácido quínico, tartárico y

shikímiko. Un ácido fenólico que se encuentra en altas concentraciones en el café es el ácido clorogénico, que resulta de la unión de ácido quínico y cafeico. Las frutas con concentraciones más altas de ácidos hidroxicinámicos son las manzanas, cerezas, piña, kiwis y arándanos, siendo el ácido cafeico, libre y esterificado, el más abundante (Macheix et al., 1990). Otro ácido fenólico abundante en la dieta es el ácido ferúlico que se encuentra en los cereales, principalmente en su parte externa (Sosulski et al., 1982; Hatcher & Kruger, 1997; Kumar & Goel, 2019).

2.2 Metabolismo, biodisponibilidad y transporte humano

Es fundamental tener en cuenta que no necesariamente los (poli)fenoles más activos dentro del organismo son los que se encuentran más comúnmente en la dieta humana. Esto puede deberse a varios factores como son: bajo consumo de estos (poli)fenoles en la dieta, su poca absorción, y/o alto metabolismo hasta metabolitos menos activos, y/o rápida eliminación y/o baja actividad biológica. Hay varios factores que pueden influir en la absorción y biodisponibilidad de los (poli)fenoles (Manach et al., 2004; D'Archivio et al., 2010; Cortés-Martín et al., 2020a; Eseberri et al., 2022). Estos factores están relacionados con:

- a) El alimento: la matriz alimentaria, presencia de otros compuestos o ingredientes, nivel de madurez del vegetal, exposición solar, procesado post-recolección, tiempo y tipo de almacenamiento y cocinado.
- b) El compuesto fenólico: estructura química, unión con otras moléculas, cantidad ingerida y concentración.

- c) El individuo: tránsito intestinal, sexo, edad, genética, estado de salud, estilo de vida, actividad enzimática, excreción y microbiota intestinal.

El efecto de la matriz alimentaria, que incluye las interacciones entre componentes de los alimentos como la unión a proteínas y polisacáridos, afectan en gran medida el metabolismo de estos compuestos. Por ejemplo, la administración de (poli)fenoles sin esta matriz en forma de suplemento, puede tener un marcado efecto en su biodisponibilidad y metabolismo, aumentando su concentración plasmática (Olthof et al., 2000; Adam et al., 2002; Tomás-Barberán & Espín 2019). Además, la presencia en el alimento de otros compuestos, como ciertos xenobióticos o nutrientes, puede tener un efecto inhibitorio o inductor sobre los transportadores o enzimas involucradas en el metabolismo de los (poli)fenoles. También, el contenido en fibra dietética en alimentos vegetales podría tener un efecto estimulante sobre la fermentación intestinal, influyendo en la producción de metabolitos microbianos específicos a partir de los (poli)fenoles (Manach et al., 2004; Di Lorenzo et al., 2021). La mayoría de (poli)fenoles no pueden absorberse en la forma original en la que se encuentran en los alimentos debido a presentarse en estructuras poliméricas, estar esterificados y/o glicosilados. Los pasos generales de su metabolismo en el organismo son: I) la acción de las enzimas digestivas y/o la microbiota intestinal, hidrolizando estos compuestos complejos para que puedan absorberse; y II) su conjugación, en el tracto gastrointestinal e hígado, donde se unen a moléculas (ácido glucurónico, glicina, ácido sulfónico, etc.) que aumentarán su hidrofiliidad para que puedan excretarse (**Figura 2**).

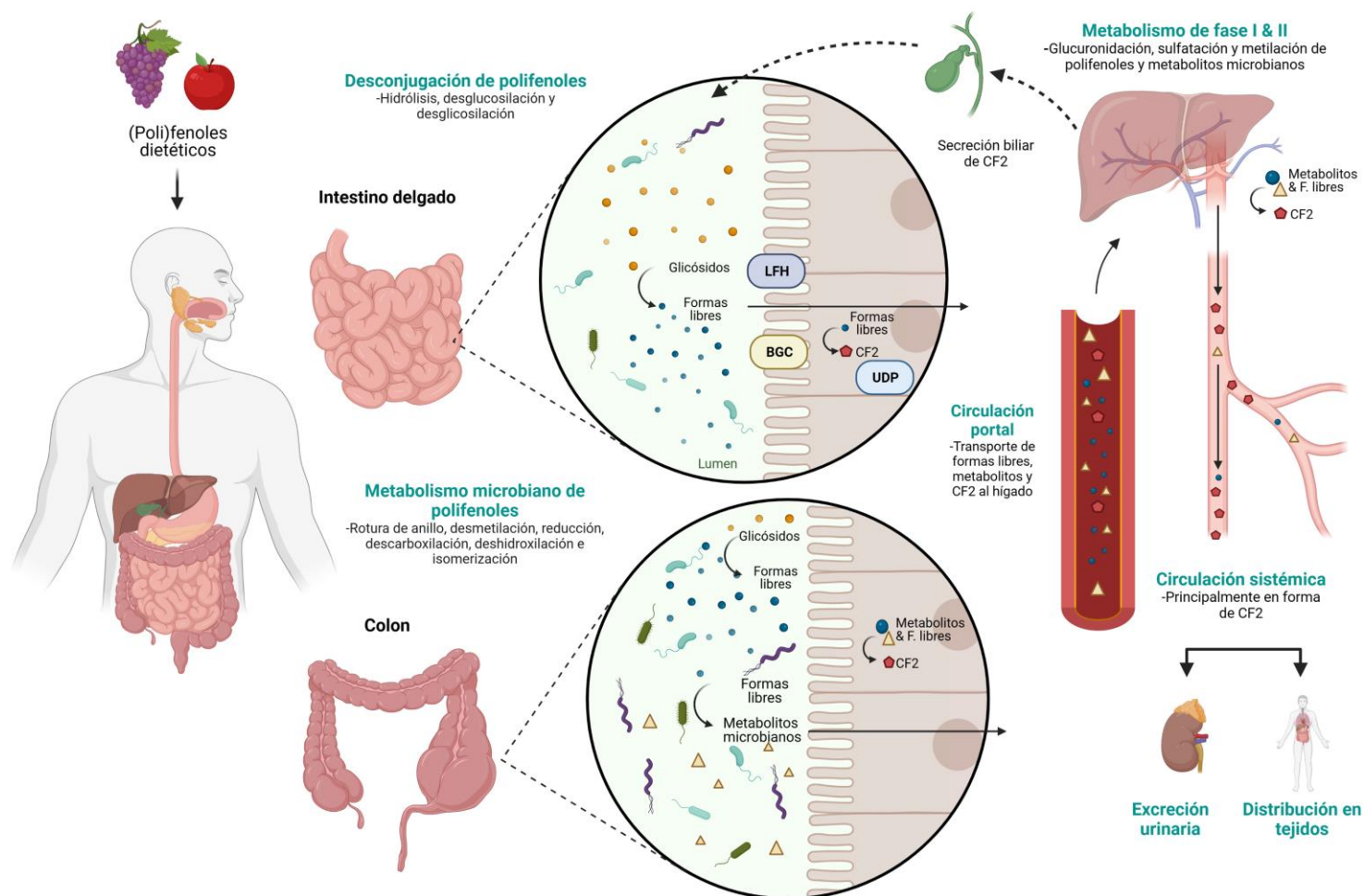


Figura 2. Metabolización de los (poli)fenoles en el organismo. CF2, conjugados de fase-II; BGC, β -glucosidasa; LFH, lactasa-floridina-hidrolasa; UDP, uridina 5'-difosfato-glucuroniltransferasa.

La conjugación es un proceso común a muchos xenobióticos, ya que reduce los posibles efectos tóxicos que pueden ocasionar estas sustancias sintéticas en el organismo mediante su detoxificación metabólica. Además, los (poli)fenoles y sus derivados también pueden entrar en re-circulación enterohepática, al ser secretados en el duodeno a través de la bilis y reabsorberse en los segmentos más distales del intestino delgado, prolongando su presencia en el organismo (Scalbert & Williamson, 2000; Marín et al., 2015). Dentro del organismo, los (poli)fenoles y los metabolitos derivados también difieren en su sitio de absorción. Mientras algunos son absorbidos en diferentes partes del intestino delgado, otros se absorben en el colon (**Figura 2**). Varios estudios en roedores han observado que algunos flavonoides pueden incluso absorberse en el estómago, pero la mayoría de los glicósidos son resistentes a la hidrólisis estomacal y llegan intactos al intestino delgado. Mayoritariamente, pasan al colon, donde la eficiencia de absorción es sólo aproximadamente del 15% al 20% del contenido total de (poli)fenoles (Manach et al., 2004; Passamonti et al., 2005; D'Archivio et al., 2007; Di Lorenzo et al., 2021).

El término biodisponibilidad se refiere a la proporción de los compuestos que pueden alcanzar la circulación sanguínea en la misma forma molecular ingerida, sin transformaciones metabólicas. En el caso de los (poli)fenoles, la biodisponibilidad puede variar dependiendo el tipo de compuesto, pero en general es muy baja. Como mencionamos anteriormente, la mayoría de los (poli)fenoles se encuentran en los alimentos en forma conjugada con diversos tipos de azúcares, ésteres, o polimerizados, lo que dificulta su absorción. Los microorganismos y enzimas intestinales hidrolizan los (poli)fenoles, lo que provoca una serie de transformaciones que cambian ampliamente

su estructura para poder ser asimilados por el organismo. Estos (poli)fenoles hidrolizados (es decir, ya en su forma libre o aglicona) son luego conjugados, primero en los enterocitos y después en los hepatocitos, mediante procesos como la glucuronidación, sulfatación y metilación (**Figura 2**) (Day & Williamson, 2001; D'Archivio et al., 2007; Di Lorenzo et al., 2021). Como resultado de estas transformaciones, las moléculas transportadas en la circulación y que llegan a los distintos órganos y tejidos del organismo son diferentes a sus precursores fenólicos presentes en los alimentos. Esto plantea un desafío científico que requiere la caracterización de estas nuevas moléculas e identificación de sus efectos biológicos. Es importante destacar que la naturaleza de los metabolitos circulantes en la sangre y el grado de su absorción, no sólo vienen determinados por su concentración, sino también por la estructura química del (poli)fenol, lo que conlleva a una gran variabilidad en el efecto biológico de cada compuesto (Setchell et al., 2003; Marín et al., 2015; Di Lorenzo et al., 2021).

Las transformaciones de los (poli)fenoles por enzimas intestinales comienzan con la acción de la lactasa-floricina hidrolasa, una enzima que se encuentra en la membrana del epitelio intestinal y se encarga de catalizar la hidrólisis de un amplio rango de (poli)fenoles glicosilados a sus respectivas agliconas (Day et al., 2000; Marín et al., 2015). Sin embargo, su acción presenta una alta variabilidad interindividual en la edad adulta, ya que por ejemplo hasta el 90% de las personas que residen en Asia y África presentan deficiencia de esta enzima, a diferencia de sólo el 5% de los europeos. Otras enzimas intestinales involucradas son las β -glucosidasas las cuales ejercen su efecto en el citosol. El transportador de glucosa dependiente de sodio (SGLT1) es el responsable de transportar al interior de los enterocitos los glucósidos sin hidrolizar para que sean

hidrolizados por estas enzimas. Sin embargo, no todos los poli(fenoles) son sometidos a la acción de estas enzimas. Mientras que algunos compuestos fenólicos se absorben de manera rápida en el intestino delgado, la mayoría llegan al colon sin ser transformados por las enzimas intestinales y son los microorganismos de la microbiota los que transforman los glicósidos en agliconas, que a su vez pueden ser metabolizadas hasta metabolitos más simples de estructura y actividad muy diversas (D'Archivio et al., 2007; Marín et al., 2015; Di Lorenzo et al., 2021).

Una vez absorbidos sufren distintas reacciones de conjugación en el tracto gastrointestinal e hígado, para poder ser eliminados a través de la orina o la bilis. La posición de la glucuronidación y sulfatación (estrictamente, una sulfonación) depende del tipo de compuesto, pero suele presentarse en los hidroxilos, por ejemplo, en el caso de flavonoides, cuando se encuentran en las posiciones 3, 7, 3' y 4' de la molécula. En cuanto a la metilación, suele ocurrir preferentemente en las posiciones 3' o 4' de flavonoides (anillo B) y 3 o 4 en los grupos hidroxilo de no-flavonoides. Las posiciones de los grupos conjugados en la estructura química del (poli)fenol pueden afectar las propiedades y efectos biológicos de los metabolitos circulantes. La adición y transferencia de estos grupos es catalizada por la acción de enzimas específicas como glucuronosiltransferasas (UGTs), sulfotransferasas (SULTs) y metiltransferasas (MTs). Como decíamos anteriormente, la eficiencia de la acción de estas enzimas y los mecanismos de conjugación, es otra de las causas de la baja biodisponibilidad de los (poli)fenoles, apenas encontrándose en circulación la forma ingerida o la correspondiente aglicona (Lee et al., 2002; Miksits et al., 2005; D'Archivio et al., 2010; Di Lorenzo et al., 2021).

Estas enzimas de fase-I y II, así como los transportadores de eflujo, juegan un papel importante en la eliminación y/o detoxificación de xenobióticos en general, y (poli)fenoles en particular, y se expresan ampliamente en diferentes órganos y tejidos del organismo. Las enzimas y transportadores pueden encontrarse abundantemente a nivel basal o incrementar su expresión después de la exposición a estos compuestos (Murota et al. 2018; Wang & LeCluyse, 2003). Las enzimas de fase-I incluyen principalmente a la superfamilia de enzimas del citocromo P450 (CYP), mientras que las enzimas de fase-II consisten en diversas superfamilias de enzimas conjugadoras que incluyen principalmente UGTs, SULTs, y transferasas de glutatión (D'Archivio et al., 2010; Di Lorenzo et al., 2021).

Glucuronidación: Las UGTs se encuentran en el retículo endoplásmico de muchos tejidos y son enzimas de membrana que catalizan la unión del ácido glucurónico (UDP-glucurónico) a otra molécula. Se sabe que una proporción significativa de los glucurónidos que se forman en la mucosa intestinal son secretados de nuevo hacia la luz intestinal, disminuyendo la absorción de los flavonoides. Se ha observado en estudios animales y humanos que la glucuronidación de (poli)fenoles sucede primero en los enterocitos y después hay una mayor conjugación en el hígado (Boersma et al., 2002; Marín et al., 2015; Di Lorenzo et al., 2021). En los seres humanos, se han identificado alrededor de 22 isoformas de UGTs distribuidas por diferentes tejidos y teniendo amplias especificidades según el sustrato, siendo principalmente la subfamilia UGT1A un grupo relacionado con el metabolismo de los compuestos fenólicos (Wu et al., 2011a; Meech et al., 2019). Además, algunas isoenzimas parecen diferir en su acción según sea el (poli)fenol en cuestión, y existe una amplia variabilidad interindividual en la

conjugación de (poli)fenoles debido al alto número de polimorfismos expresados de estas isoenzimas. La glucuronidación puede ser modificada por esos polimorfismos genéticos, la dieta y el ambiente, lo que podría explicar las diferencias observadas en la glucuronidación de algunos (poli)fenoles (Boersma et al., 2002; Yang et al., 1998; Marín et al., 2015).

Sulfatación: La transferencia de un grupo sulfonato de 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato a un grupo hidroxilo en los (poli)fenoles es catalizada por las enzimas SULTs, principalmente en el hígado. Las SULTs fenólicas (P-PST) son un grupo reducido de enzimas ampliamente distribuidas en los tejidos y que se encuentran en el citosol. Generalmente, las SULTs no suelen estar influidas por el medio ambiente, la dieta o los xenobióticos, sin embargo, los (poli)fenoles pueden inhibir algunas de estas enzimas (Burchell et al., 1995; Walle et al., 1995; Coughtrie et al., 1998; Marto et al., 2017).

Metilación: La catecol-*O*-metil transferasa (COMT) es una enzima presente en varios tejidos, con una actividad especialmente alta en los riñones y el hígado. Esta enzima cataliza la transferencia de un grupo metilo de la S-adenosil metionina (SAM) a un grupo hidroxilo en diversos sustratos, incluidos los (poli)fenoles. La determinación de qué grupos hidroxilo en el anillo del (poli)fenol serán metilados dependerá de su especificidad para los (poli)fenoles, y esto a su vez podrá influir en su posterior metabolismo, ya que el citocromo P450 tiene la capacidad de desmetilar algunos flavonoides en la posición 4' pero no en la posición 3' (Nielsen et al., 1998; Tsao et al., 2011; Bastos et al., 2017).

La regulación de la producción y también la liberación de los diversos metabolitos de (poli)fenoles por parte de las células hepáticas está regulada por este complejo conjunto

de sistemas enzimáticos y transportadores. La importancia relativa de estos tres tipos de conjugación puede variar dependiendo de la dosis y la naturaleza del compuesto ingerido. Por ejemplo, hay un cambio de sulfatación hacia glucuronidación al aumentar la dosis ingerida del compuesto, ya que la sulfatación tiene una capacidad limitada en comparación con la glucuronidación, aunque es la vía de inicio con mayor afinidad. También el sexo, la especie y la privación de alimentos son factores que pueden afectar el equilibrio entre sulfatación y glucuronidación (Koster et al., 1981; Piskula, 2000; Di Lorenzo et al., 2021).

Además de las reacciones de conjugación de fase-II, las enzimas de fase-I, principalmente CYP, también participan en el metabolismo de los (poli)fenoles. Sin embargo, este metabolismo representa una vía metabólica menor en comparación con el metabolismo de fase-II. Además, se ha visto que los productos de la reacción CYP pueden ser conjugados rápidamente con glucurónidos y sulfatos (Tolleson et al., 2002; Jeong et al., 2005; Nakajima et al., 2006; Di Lorenzo et al., 2021).

En cuanto al transporte de estas moléculas dentro del organismo, se ha observado que estos metabolitos pueden ser transportados en la circulación sanguínea junto a proteínas, como la albúmina, teniendo un rol importante en la biodisponibilidad y transporte de los (poli)fenoles. La estructura química del compuesto afecta a su afinidad hacia esta proteína, y esta unión, a su vez, influye en la distribución en células y tejidos, así como la eliminación de los (poli)fenoles y sus metabolitos derivados. Sobre la actividad biológica, no está claro que los (poli)fenoles unidos a albúmina mantengan su actividad biológica (Dangles et al., 2001; Dofour et al., 2007). Al llegar a los tejidos, la penetración de los (poli)fenoles a través de la membrana celular viene determinada por

su conformación tridimensional. Se ha visto que (poli)fenoles con una conformación plana mostraban una profunda interacción con la membrana celular (Movileanu et al., 2000; Reis et al., 2021). En general, el metabolismo, biodisponibilidad y transporte de los (poli)fenoles son factores que influyen en gran medida en la estructura química de sus metabolitos, así como en la distribución y concentración de estas moléculas en los diferentes tejidos.

2.2.1 Características particulares del metabolismo y biodisponibilidad de los (poli)fenoles

La biodisponibilidad de la mayoría de flavonoides es baja (Liang et al., 2023). Por ejemplo, la mayor parte de las antocianinas ingeridas llega al colon, ya que solo una pequeña cantidad se absorbe en el intestino delgado, intacta o como antocianidinas (Prior & Wu, 2006; He et al., 2005; Liang et al., 2023). La fracción que alcanza el colon es metabolizada por la microbiota intestinal para dar lugar a diferentes ácidos fenólicos simples y otros fenólicos de bajo peso molecular (floroglucinol, pirogalol, etc.) (Liang et al., 2023).

La mayoría de isoflavonas se encuentran en forma de glicósidos y esterificadas con ácidos orgánicos, lo que dificulta también su absorción a través de las células intestinales. Los glicósidos de isoflavonas son hidrolizados en el tracto gastrointestinal y las agliconas se absorben y son conjugadas por enzimas de fase-II, formando metabolitos conjugados (glucurónidos, sulfatos, etc.) que circulan en sangre. Parte de las isoflavonas ingeridas alcanzan el colon y son transformadas mediante reacciones de reducción, hidroxilación y ruptura del anillo C (Selma et al., 2009; Křížová et al., 2019).

Al igual que las isoflavonas, los flavonoles, después de ser desglicosilados en el intestino delgado o colon, son objeto de metabolismo de fase-II para producir diversos metabolitos glucurónidos, sulfatos y sulfoglucurónidos. La fracción no absorbida que alcanza el colon también es metabolizada por la microbiota colónica hasta diversos ácidos fenólicos y otros metabolitos de bajo peso molecular (Wang et al., 2023).

La conversión de flavonas en moléculas más grandes como los glucurónidos es un factor fundamental que afecta su biodistribución, influyendo también la metilación y la sulfatación. Flavonas como la apigenina se absorben relativamente bien en el intestino debido a su mayor lipofilicidad. La apigenina sufre metabolismo de fase-I produciendo derivados monohidroxilados como la luteolina, escutelarina e isoescutelarina. En general, la apigenina está unida a diferentes azúcares y su absorción gastrointestinal está influenciada por el grado de glicosilación, y por su posterior metabolismo por las α -ramnosidasas microbianas y β -glucosidasas humanas (Kashyap et al., 2022).

Existe abundante evidencia sobre el metabolismo de la flavanona hesperidina. Sin embargo, conocemos menos sobre el metabolismo de la eriocitrina (Li & Schluesener, 2017; Najmanová et al., 2020; Ávila-Gálvez et al., 2021a). La baja solubilidad de la hesperidina dificulta su biodisponibilidad y metabolismo microbiano produciendo una alta variabilidad entre individuos en la producción de sus derivados (Vallejo et al., 2010). En cambio, la estructura molecular de la eriocitrina parece conferirle mayor solubilidad favoreciendo la acción hidrolítica de las ramnosidasas microbianas para producir eriodictiol. Una vez que esta aglicona es producida puede sufrir las siguientes reacciones de conjugación o ser deshidroxilada para producir naringenina y sus derivados. Recientemente se ha descrito por primera vez la formación de hesperitina después del

consumo de eriocitrina, probablemente debido a la metilación del eriodictiol (Ávila-Gálvez et al., 2021a).

Los diferentes flavan-3-oles presentan variabilidad en su metabolismo, por ejemplo, se ha observado que la (-)-epicatequina es más biodisponible que la (+)-epicatequina y la (-/+)-catequina (Ottaviani et al., 2011; Clifford et al., 2013; Borges et al., 2018). Aún no se ha investigado en profundidad el destino metabólico de la epigallocatequina-3-galato, ya que se elimina rápidamente del sistema circulatorio sin haberse podido detectar en la orina (Di Pede et al, 2023). La absorción y los mecanismos de conjugación posteriores de fase-II de los flavan-3-ols galoilados posiblemente están afectados por el grupo galoil. Además, la sulfatación, la glucuronidación y la metilación de los monómeros de flavan-3-oles están influidas por la estereoquímica de los compuestos. Los flavan-3-oles circulan principalmente como conjugados de catabolitos colónicos, como derivados de hidroxifenil- γ -valerolactonas y ácidos hidroxifenilvaléricos (Stevens & Maier, 2016; Mena et al., 2019a; Di Pede et al, 2023)

En cuanto a los lignanos, la acción enzimática intestinal puede producir la desglicosilación de secoisolariciresinol diglucósido (SDG) para convertirse en secoisolariciresinol. Por otro lado, a través de una serie de transformaciones enzimáticas, el compuesto pinoresinol diglucósido se puede transformar en pinoresinol, lariciresinol y secoisolariciresinol (Senizza et al., 2020). Una ruta menos relevante es la reducción de lariciresinol, que genera dimetil-secoisolariciresinol (Mosele et al., 2015). Alternativamente, el secoisolariciresinol también puede producirse por la reducción de lariciresinol o por la desglicosilación de SDG, que no se absorbe (Quartieri et al., 2016). La microbiota intestinal puede a su vez convertir el secoisolariciresinol en varios

metabolitos, incluyendo los enterolignanos enterodiol y enterolactona (Quartieri et al., 2016; Peirotén et al., 2019).

La alta tasa de metabolismo por enzimas de fase-II tiene como resultado la baja biodisponibilidad de los estilbenos, como RSV y pterostilbeno. Las agliconas de estilbenos se pueden convertir en sus glicósidos correspondientes por acción de glicosiltransferasas (Teka et al., 2022). Estructuralmente, el pterostilbeno proporciona solo un único grupo hidroxilo para las reacciones de conjugación, lo que lo convierte en un sustrato menos favorable de las UGTs y SULTs, por lo que tendría una mejor estabilidad metabólica que RSV (Wang & Sang, 2018). Se han descrito tres metabolitos microbianos después del metabolismo microbiano de RSV, que incluyen dihidroresveratrol (DHRSV), el primer metabolito identificado, además de 3,4'-dihidroxi-*trans*-estilbeno (DHST) y lunularina (LUNU) (Bode et al., 2013; Wang & Sang, 2018). También se ha identificado pinoestilbeno como un metabolito del pterostilbeno descrito en el colon de ratones (Sun et al., 2016; Wang & Sang, 2018).

Los taninos condensados, como las proantocianidinas, a menudo son resistentes a la acción de las enzimas digestivas en el estómago y el intestino delgado. Generalmente son demasiado grandes y complejas para ser absorbidas directamente en el intestino delgado, pero pueden ser parcialmente degradadas en monómeros y oligómeros por algunas enzimas producidas por la microbiota intestinal y del tracto gastrointestinal. Las proantocianidinas más pequeñas son transportadas al hígado, donde pueden ser metabolizadas por enzimas de fase-II, donde el metabolismo polimérico parece ser menor que el de monómeros. Los principales metabolitos de los proantocianidinas en plasma son los dímeros y monómeros de proantocianidinas metilados y glucuronidados.

En el colon, las proantocianidinas son metabolizadas por la microbiota colónica en ácidos fenólicos de bajo peso molecular, como derivados de fenilvalerolactona, ácidos fenilacéticos y ácidos fenilpropiónicos. (Zhang et al., 2016a; Sallam et al., 2021).

Los ácidos fenólicos presentes en los alimentos son liberados durante la digestión llegando al intestino delgado, pero además pueden ser el resultado del metabolismo microbiano de otro tipo de (poli)fenoles (Piazzon et al., 2012; Kumar & Goel, 2019). Los ácidos fenólicos y sus metabolitos pueden absorberse a través de la mucosa intestinal. Después de la absorción en el tracto gastrointestinal pueden metabolizarse en el hígado mediante una serie de reacciones de conjugación, principalmente los ácidos cafeico y ferúlico (Jiménez et al., 2010; Omar et al., 2012; Kumar & Goel, 2019). Su conjugación se produce al reducir los grupos hidroxilo, disminuyendo su poder antioxidante. Los ácidos clorogénico, ferúlico, cafeico y sinápico son metabolizados principalmente por los microorganismos del colon (Kumar & Goel, 2019).

2.3 Distribución en tejidos

Los (poli)fenoles ingeridos, y sus metabolitos derivados de la microbiota intestinal, se encuentran distribuidos principalmente en el tracto gastrointestinal. Los conjugados de fase-II, tanto de (poli)fenoles como de metabolitos microbianos, se encuentran principalmente en circulación sanguínea. Sin embargo, también se han localizado diversos conjugados de fase-II e incluso formas libres en diversos tejidos sistémicos humanos como la próstata, y glándula mamaria (González-Sarrías et al., 2010; Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b).

Un elemento que influye en gran medida en la distribución de los (poli)fenoles y sus derivados a las células y tejidos es el grado de unión que tienen estos compuestos a proteínas séricas. Se ha visto que la concentración no unida de los metabolitos podría ser proporcional a la absorción celular, pero puede haber cambios conformacionales de las proteínas debido a las diferencias de pH en distintos tejidos, lo que influye en estas concentraciones al provocar una disociación del complejo (poli)fenol–proteína. También se ha observado que interacciones inespecíficas con varias membranas pueden inducir cambios conformacionales en proteínas séricas como la albúmina (Horie et al., 1988; Manach et al. 2004; Reis et al., 2021).

Se ha cuestionado si las concentraciones plasmáticas de (poli)fenoles y sus metabolitos son biomarcadores precisos de exposición, ya que la distribución entre sangre y tejidos puede ser diferente, además que las concentraciones en plasma no están directamente correlacionadas con las concentraciones en tejidos diana (Hong et al., 2002, Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b). La concentración de los (poli)fenoles detectada en los órganos puede variar según tipo y porción de tejido analizado. En estudios de microautoradiografía después de la administración de epigallocatequina galato o RSV radiomarcados a roedores, se observó que la radiactividad no se incorpora de igual forma en las células de un mismo órgano. Otros estudios han demostrado que diversos (poli)fenoles se acumulan en distinta proporción en diferentes zonas del tejido y que su distribución puede ser varias veces mayor en un órgano en comparación al resto de tejidos (Suganuma et al., 1998; Datla et al., 2001; Kwon et al., 2001; Vitrac et al., 2003). En relación a su distribución en el cerebro, un factor limitante a considerar es la capacidad del compuesto para atravesar la barrera hematoencefálica. Se ha

identificado acumulación de hidroxitirosol y sus derivados en cerebro perfundido de ratas, después del consumo crónico de una dieta suplementada con hidroxitirosol o derivados de oleuropeina (Hazas et al., 2018). Aunque se ha descrito en diversos estudios la llegada de compuestos fenólicos y/o metabolitos microbianos derivados al parénquima cerebral, sin embargo, la inmensa mayoría de estos resultados son cuestionables al no haberse realizado en cerebro perfundido, esencial para eliminar la irrigación cerebral (Jiménez-Loygorri et al., 2023).

En estudios humanos se ha observado que algunos (poli)fenoles, aunque en cantidades traza, están presentes en forma libre en la circulación sanguínea, incluyendo algunas flavonas, isoflavonas, catequinas, ácidos hidroxicinámicos y RSV, entre otros (Williamson et al., 2005; Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b). Además, en un estudio donde pacientes con cáncer de mama consumieron una mezcla que incluía 37 fenólicos se llegaron a detectar en plasma hasta 69 metabolitos, fundamentalmente conjugados de fase-II, derivados de los (poli)fenoles ingeridos. En este mismo estudio se identificaron hasta 40 metabolitos, también fundamentalmente conjugados de fase-II, en tejido mamario sano y tumoral, de RSV, urolitinas (UROs), e hidroxifenilvalerolactonas, entre otros (Ávila-Gálvez et al., 2019). Posteriormente, otro estudio también en tejido mamario de pacientes con cáncer de mama detectó otros metabolitos derivados de (poli)fenoles, incluyendo lignanos, isoflavonas y curcuminoides, y de forma relevante, curcumina (CUR) libre, tanto en tejido sano como en tejido canceroso (Ávila-Gálvez et al., 2021b). Esto sugiere que, aunque con algunos matices cuali-cuantitativos, estos fenólicos y sus metabolitos derivados se pueden distribuir de una forma

aproximadamente similar tanto en tejidos sanos como cancerosos (Núñez-Sánchez et al., 2014; Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b).

2.4 Efecto de los (poli)fenoles en la salud humana

Los efectos de los (poli)fenoles dietéticos en la salud no se han identificado de manera inequívoca y los mecanismos reales detrás de los efectos no están completamente establecidos. Se ha observado que los (poli)fenoles tienen efectos beneficiosos en la salud intestinal al reducir la inflamación, por medio de la disminución del estrés oxidativo, la protección de la barrera intestinal, la regulación positiva de Nrf2, la supresión de activación de NF- κ B, la modulación del sistema inmune y la inhibición de citoquinas inflamatorias como TNF- α e interleuquinas (IL) 6, 8 y 1 β . Además, se ha demostrado que reducen la inflamación sistémica y la endotoxemia metabólica al limitar de forma indirecta la infiltración de lipopolisacáridos bacterianos (LPS) y la translocación de patógenos y antígenos al proteger la barrera intestinal (Farzaei et al., 2015; Shimizu, 2017; González-Sarrías et al., 2018a,b; Li et al., 2020a). Muchos (poli)fenoles y metabolitos derivados, como por ejemplo CUR, RSV, punicalagina y urolitina A (Uro-A), han sido estudiados por sus efectos en la reducción de la inflamación y protección de la mucosa intestinal (Larrosa et al., 2009, 2010; Núñez-Sánchez et al., 2015; Alam et al., 2018; Ding et al., 2020).

Varios meta-análisis han revisado las evidencias sobre los efectos de los (poli)fenoles en diversas enfermedades. En términos de sus efectos cardiovasculares y metabólicos, se han encontrado beneficios consistentes sobre la dilatación mediada por flujo (DMF), así como efectos positivos sobre la regulación de la insulina y el HOMA-IR. Estas mejoras

sobre la resistencia a la insulina se asociaron a su reducción significativa en los niveles séricos (Hooper et al., 2012). Por otro lado, el consumo de extractos de uva enriquecidos en RSV, frente a placebo o extractos sin RSV, mejoró la función endotelial, el perfil aterogénico y fibrinolítico, el metabolismo de la glucosa y marcadores de inflamación en estudios clínicos (Tomé-Carneiro et al., 2012a,b; 2013b,c). Además, la suplementación con RSV aumentó significativamente la DMF en pacientes con síndrome metabólico, aunque no tuvo efecto en la presión sistólica ni diastólica (Akbari et al., 2019). Se ha identificado que algunos (poli)fenoles podrían tener un mayor efecto en ciertos individuos, como aquellos con sobrepeso o en general, en los que no se encuentran bajo tratamiento farmacológico. Un estudio observó que consumir productos ricos en (poli)fenoles como té, cacao y manzana producía efectos similares a los producidos mediante los cambios en el estilo de vida y el consumo de medicamentos en biomarcadores lipídicos y la pérdida de peso. Sin embargo, hay que tener en cuenta otros factores que pueden influir en la eficacia biológica de estos compuestos (González-Sarrías et al., 2017a). Los alimentos que contienen elagitaninos y antocianinas, sobre todo el consumo de bayas y nueces, fueron capaces de reducir marcadores de riesgo cardiovascular. Las uvas rojas y bayas redujeron de forma significativa la presión arterial, mientras que las nueces disminuyeron significativamente los triglicéridos, el colesterol LDL (LDLc) y el perímetro de la cintura (García-Conesa et al., 2018). En una intervención en adultos con sobrepeso mediante dieta alta en grasa y contenido energético, los (poli)fenoles de la fruta protegieron la función microvascular y macrovascular, y disminuyeron niveles de marcadores inflamatorios como IL-6 y la proteína C reactiva. Esto sugiere que estos compuestos podrían reducir la respuesta inflamatoria y el riesgo

cardiovascular asociado a la disfunción endotelial tras una comida alta en grasas, típica de la dieta occidental (do Rosario et al., 2021). Como se ha comentado, el consumo de un nutraceutico de uva con RSV durante 1 año mejoró el estado inflamatorio y fibrinolítico en pacientes polimedicados con riesgo a desarrollar enfermedad cardiovascular (prevención primaria) o repetir eventos (prevención secundaria), demostrando cómo el consumo de (poli)fenoles podría complementar el tratamiento farmacológico estándar en la prevención primaria y secundaria de enfermedades cardiovasculares (Tomé-Carneiro et al., 2012a,b; 2013b,c). El consumo de fármacos, según frecuencia de ingesta, tipos, combinaciones, y dosis, es un factor muy importante a considerar sobre el efecto de los (poli)fenoles en futuros ensayos clínicos, debido a que puede influir en la variabilidad de la respuesta de los individuos a estos compuestos. Por ejemplo, en un estudio donde pacientes con síndrome metabólico consumieron un nutraceutico de extracto de granada rico en elagitaninos, se observó que la polimedicación de estos pacientes (antidiabéticos orales, antihipertensivos e hipolipemiantes) condicionó los efectos del nutraceutico, previniendo una respuesta homogénea sobre marcadores de riesgo cardiovascular e inflamación (Cortés-Martín et al., 2021).

En cuanto al efecto de los (poli)fenoles en la prevención de diversos tipos de cáncer, los meta-análisis de estudios prospectivos han mostrado que la ingesta de (poli)fenoles como las isoflavonas se han relacionado de forma significativa con un menor riesgo de desarrollar cáncer de endometrio, pulmón, ovario, mama estómago y pulmón, y esta asociación fue casi significativa para cáncer colorrectal. Los estudios de casos y controles demostraron asociaciones para diversos flavonoides y cánceres colorrectal, de mama,

de pulmón y del tracto aerodigestivo (Grosso et al., 2017). Aunque diversos estudios sugieren que el consumo de (poli)fenoles puede disminuir el riesgo de cáncer, esto depende del tipo, localización y estadío del cáncer, así como de la evaluación precisa de la exposición dietética a estos compuestos y de los tipos de compuestos específicos utilizados en el estudio (Robards et al., 1997; Núñez-Sánchez et al., 2015). De manera interesante, un estudio observó que un metabolito de fase-II de RSV, RSV 3-*O*-sulfato, que se ha detectado en tejido mamario (Ávila-Gálvez et al., 2019), tuvo un efecto anticancerígeno en células de cáncer de mama induciendo senescencia tumoral. Sin embargo, aunque se ensayaron condiciones fisiológicamente relevantes, sólo se observó este efecto después de la incubación de los metabolitos individualmente, mientras que la co-incubación simultánea de varios metabolitos no mostró tal efecto, debido a que los compuestos competían por los transportadores de membrana ABC (Giménez-Bastida et al., 2019). Otro estudio posterior confirmó estos resultados ya que la mezcla de metabolitos de RSV no mostró efectos anticancerígenos, pero sí lo hizo CUR a concentraciones detectadas en tejido humano mamario canceroso (Ávila-Gálvez et al., 2021b). Estos resultados sugieren que tomar una cantidad alta de varios (poli)fenoles de manera simultánea puede derivar en la competencia de los metabolitos por transportadores y receptores, produciendo una menor actividad de estos metabolitos. Por otro lado, este mismo estudio encontró que la ingesta simultánea de grandes cantidades de varios (poli)fenoles puede llevar a la saturación de las reacciones de conjugación, permitiendo que algunos (poli)fenoles lleguen a diversos tejidos en su forma libre pudiendo ser mucho más bioactivos, como ocurrió en el caso de la CUR

(Ávila-Gálvez et al., 2021b). Por tanto, existen muchos matices cuali-cuantitativos a tener en cuenta en la relación (poli)fenoles de la dieta y salud.

En cuanto a la capacidad neuroprotectora de (poli)fenoles, por ejemplo, se ha descrito una mejora, pero sólo en un número limitado de sujetos, al realizar un test sobre memoria y aprendizaje verbal (RAVLT), principalmente después del consumo de RSV e isoflavonas de la soja (Potì et al., 2019). También, se ha visto que otro test que evalúa las funciones ejecutivas (TMT-B) mejoró con el consumo de RSV (Marx et al., 2018). Además, un ensayo clínico demostró que RSV tuvo un efecto beneficioso en la cognición y funciones cerebrovasculares en mujeres posmenopáusicas (Cheng et al., 2015). En el caso de los elagitaninos y el ácido elágico, hay evidencias que sugieren que el consumo de fuentes ricas en estos (poli)fenoles, como la granada y sus productos derivados, tienen efecto en las funciones cerebrales humanas. Sin embargo, aún no están totalmente identificados los metabolitos responsables finales, así como el mecanismo preciso de los efectos observados en humanos. Diversos estudios han observado que el consumo de granada en forma de extracto o zumo fue capaz de mejorar el rendimiento de retención de memoria relacionado con el aumento del flujo cerebral (Bookheimer et al., 2013; Ropacki et al., 2013). Se ha sugerido que el mejor estado antioxidante del plasma, debido al consumo de granada, pudo haber estado detrás de los efectos al aumentar la función de memoria a través del aumento relacionado con la tarea en la actividad cerebral funcional (Bookheimer et al., 2013). En general, la evidencia causa-efecto sobre el consumo de (poli)fenoles y la función neurocognitiva sigue siendo escasa.

En varios estudios, los (poli)fenoles han planteado la paradoja de ejercer efectos biológicos significativos a pesar de su baja biodisponibilidad. La evidencia apunta cada vez más a la importancia en las funciones biológicas de los metabolitos derivados como los producidos de la biotransformación mediada por la microbiota intestinal. Por esto mismo, los metabolitos de los (poli)fenoles han suscitado un gran interés en los últimos años, debido a que, al compararse con los compuestos originales, algunos mostraron efectos biológicos similares e incluso superiores (Luca et al., 2020). La estratificación de los individuos de acuerdo con su diferente capacidad para metabolizar estos compuestos y el perfil metabólico que presentan podría ayudar a explicar la variabilidad entre individuos de los efectos observados tras el consumo de compuestos (Espín et al., 2017; González-Sarrías et al., 2017b; Cortés-Martín et al., 2020a). Es indispensable tener en cuenta la implicación de la microbiota intestinal en la producción de estos metabolitos para poder tener una perspectiva amplia y comprender mejor el papel que desempeñan los (poli)fenoles de la dieta en la salud humana.

La mayoría de meta-análisis y revisiones sistemáticas sobre el efecto de los (poli)fenoles en la salud mencionan algunos efectos de estos compuestos sobre la salud como “prometedores” o “potenciales”. Sin embargo, suelen concluir con las mismas precauciones: “se requieren más investigaciones bien diseñadas y de alta calidad”. Sigue pendiente el establecimiento de una clara relación de causa-efecto entre los (poli)fenoles ingeridos en la dieta y sus posibles efectos beneficiosos, por lo que muchas de sus afirmaciones de salud propuestas para estos compuestos han sido rechazadas por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). La EFSA solo ha aceptado un par de casos que incluyen: 1) El hidroxitirosol presente en el aceite de oliva y su

protección contra el daño oxidativo de las partículas de LDLc; y II) Los flavan-3-oles del cacao y su efecto en la mejora de la función endotelial (EFSA Panel on Dietetic Products and Nutrition and Allergies, 2011; EFSA Panel on Dietetic Products and Nutrition and Allergies 2012). Sin embargo, incluso en estos casos, el metabolito final responsable de los efectos es desconocido y por ello, no está claro si los efectos observados después del consumo de alimentos ricos en (poli)fenoles son ejercidos principalmente por: 1) los (poli)fenoles ingeridos; 2) sus metabolitos conjugados de fase-II; 3) el gradiente cualitativo de metabolitos producido por la microbiota intestinal; y/o 4) la microbiota intestinal característica asociada con el metabolismo de (poli)fenoles (Cortés-Martín et al., 2020a).

3. Microbiota humana

La microbiota humana se refiere a la comunidad de microorganismos que habitan sobre y dentro del cuerpo humano. Estos incluyen bacterias, arqueas, virus y hongos, organismos esenciales para mantener la salud y el equilibrio en el organismo. La mayoría de los microorganismos en la microbiota humana se encuentran dentro del tracto gastrointestinal, principalmente en el intestino grueso, pero también hay otras microbiotas características según su ubicación, en la piel, boca, nariz, aparato genital y otros lugares del cuerpo (Ley, 2022).

Los avances en las nuevas tecnologías de secuenciación, independientes del cultivo *in vitro*, han demostrado que el microbioma humano tiene una enorme diversidad y capacidad funcional, siendo dinámico según las diferentes etapas de la vida. Anteriormente, los estudios basados en cultivos de microorganismos individuales

(bacterias, arqueas, hongos y virus) aislados de muestras de pacientes con enfermedades o infecciones eran lo que determinaba la visión que existía sobre nuestra microbiología. Sin embargo, las observaciones microscópicas llevadas a cabo por microbiólogos que investigaban sobre las ecologías microbianas, reconocieron que la diversidad de los microorganismos observados era mucho mayor que la de los microbios que se recuperaban en ensayos de cultivo tradicionales (Lynch & Pedersen, 2016). Los microorganismos viven en comunidades microbianas complejas e interactivas, y rara vez los encontramos de forma aislada dentro de un hábitat. El ser humano no es la excepción, siendo un holobionte habitado por un conglomerado de células microbianas pertenecientes a diferentes especies y que se encuentran en nichos separados espacialmente (Oh et al., 2014).

Los estudios sobre el microbioma humano han puesto de manifiesto que los microbios que ocupan varios hábitats dentro del organismo, como el intestino, la piel y la zona genital, pueden diferir notablemente, y posiblemente algunos de los factores que podrían estar implicados en esta diversidad son la exposición temprana a otros microorganismos, la genética y factores medioambientales (Sonnenburg et al., 2016). El Proyecto Microbioma Humano fue una iniciativa global que tuvo como objetivo caracterizar la ecología de las comunidades microbianas asociadas al ser humano llevando a cabo el análisis de microbiota en la cohorte más grande y que incluía muestras de más regiones corporales distintas (hasta 18 localizaciones diferentes) en adultos sanos. En este proyecto se demostró que cada región del cuerpo humano alberga una comunidad microbiana única y diversa. Por ejemplo, se observó que las comunidades orales e intestinales eran especialmente diversas, a diferencia de otras regiones

corporales que albergaban comunidades más simples. También se observó que las características especiales de cada región del organismo pueden afectar la composición de estas comunidades microbianas. Por ejemplo, la boca tiene una diversidad microbiana distinta debido a las condiciones ácidas y la presencia de dientes, mientras que el intestino alberga una comunidad compleja y altamente diversa debido a su papel en la digestión y absorción de nutrientes. En cuanto a los taxones compartidos entre todas las regiones corporales, no se observó ninguno que se encontrara presente universalmente en todos los sitios muestreados. Por el contrario, varias rutas metabólicas son ubicuas entre individuos y regiones corporales, siendo las más abundantes las rutas de nucleótidos, la síntesis de ATP y la glucólisis, y las rutas del ribosoma y maquinaria de traducción (The Human Microbiome Project Consortium, 2012; Ley, 2022).

Nuestra especie ha co-evolucionado con este conjunto de microorganismos que amplía y complementa el potencial de nuestro propio genoma, añadiendo hasta 10 millones de genes más, que suponen unas 100-500 veces más genes de los que alberga nuestro genoma (Li et al., 2014; Cheng et al., 2020a). La variación entre sujetos en composición de la comunidad microbiana, así como de sus funciones metabólicas a lo largo del tiempo, es consistentemente mayor que la variación dentro de un mismo sujeto. Además, parece que a lo largo de la vida la singularidad de la comunidad microbiana de cada individuo es estable (The Human Microbiome Project Consortium, 2012; Gomaa, 2020). Las relaciones entre microorganismos las podrían condicionar factores como el pH, la humedad, el oxígeno, otras interacciones microbianas de competencia o mutualismo y características de la inmunidad del huésped (Faust et al.,

2012; Gomaa, 2020). La mayoría de las diferencias interindividuales en el microbioma humano no se pueden explicar por las características fenotípicas de los individuos, como el grupo étnico, el género, la temperatura corporal, el índice de masa corporal (IMC) y la presión arterial, así que se deben considerar otros factores como la genética, los ciclos circadianos y los hábitos alimenticios a corto y largo plazo (The Human Microbiome Project Consortium, 2012; Gomaa, 2020).

Un gran número de especies microbianas diversas residen en el tracto gastrointestinal, y la alteración de esta microbiota, conocido como disbiosis, que incluye un desequilibrio en la composición y función de estas comunidades microbianas, se ha relacionado con una multitud de enfermedades que van desde trastornos gástricos e intestinales hasta enfermedades metabólicas, cardiovasculares, neurológicas, respiratorias y hepáticas. En la actualidad, muchos estudios se centran en investigar la posible implicación de la microbiota intestinal en varias de las enfermedades y sus mecanismos relacionados, con el objetivo de poder identificar y desarrollar nuevas intervenciones terapéuticas y preventivas (Lynch & Pedersen, 2016; Afzaal et al., 2022).

3.1 *Microbiota intestinal*

La microbiota intestinal humana es un complejo ecosistema formado por billones de microorganismos que se establece desde la infancia a lo largo del tracto gastrointestinal y tiene la capacidad de interactuar con el hospedador durante todas las etapas de su vida. En el intestino humano, esta microbiota puede llegar a estar conformada por hasta cientos de miles de taxones bacterianos diferentes, siendo los filos Firmicutes y Bacteroidetes a los que pertenecen la mayoría de microorganismos (Eckburg et al.,

2005; Ley et al., 2006; Vaiserman et al., 2017). La microbiota intestinal coloniza y empieza su establecimiento en los seres humanos en etapas muy tempranas de la vida. Anteriormente, el útero se consideraba un ambiente estéril, pero diversos estudios detectaron la presencia de microorganismos en la placenta y líquido amniótico de madres sanas y en el meconio de los recién nacidos (DiGiulio et al., 2010; Gosalbes et al., 2013; Aagaard et al., 2014). Sin embargo, se necesitan más estudios que confirmen estos resultados ya que no hay un consenso y una revisión reciente encontró que la evidencia actual no es suficiente para respaldar la existencia de un microbioma dentro del entorno fetal (Pérez-Muñoz et al., 2017). Sin embargo, el tipo de parto sí parece ser importante en la colonización y establecimiento temprano del microbioma intestinal en los bebés. Un estudio en donde se analizaron muestras de diadas madre-hijo(a) observó que la microbiota intestinal y vaginal materna era más similar a la microbiota intestinal de los recién nacidos por vía vaginal (Domínguez-Bello et al., 2010; Bäckhed et al., 2015).

La diversidad del microbioma intestinal y su capacidad funcional se expanden durante los primeros años de vida para disminuir más adelante en la infancia, convirtiéndose en una composición más estable con múltiples miembros del filo Bacteroidetes. Sin embargo, esta diversidad sigue siendo menor que en la edad adulta, donde aumenta y está dominada por Bacteroidetes y Firmicutes, pero también incluye proporciones pequeñas de Actinobacteria, Proteobacteria y Verrucomicrobia. Además de estos filos bacterianos, podemos encontrar levaduras, arqueas metanógenas y múltiples fagos. Durante la edad adulta, la microbiota intestinal es más estable, pero hay una gran variabilidad entre individuos respecto a las especies y cepas presentes (Eckburg et al., 2005; Reyes et al., 2010; Yatsunencko et al., 2012; Cheng et al., 2016). En la vejez, las

enfermedades crónicas, los cambios en los hábitos de la dieta y la disminución de la inmunidad influyen en la microbiota intestinal afectando su composición y diversidad (Claesson et al., 2012; O'Toole & Jeffery, 2018).

Un catálogo integrado del metagenoma de microorganismos en heces humanas ha identificado millones de genes microbianos en muestras de más de mil individuos residente en Europa, Asia y América (Li et al., 2014; Liu et al., 2021). Los seres humanos y estos microorganismos intestinales tienen una relación de interdependencia debido a los millones de años de coevolución, resultando en el desempeño de varias funciones en nuestro organismo por parte de esta microbiota intestinal humana como son: a) protección contra la proliferación de patógenos; b) biogénesis de energía (hasta una décima parte de las necesidades diarias); c) entrenamiento y maduración de la respuesta inmune; d) señalización neurológica y ósea; e) influencia en la proliferación celular y vascularización; f) síntesis de neurotransmisores, vitaminas y otros compuestos; g) metabolismo de las sales biliares, xenobióticos y medicamentos; h) eliminación de toxinas; y i) regulación de funciones endocrinas intestinales (Cho et al., 2012; Reinhardt et al., 2012; Yatsunencko et al., 2012; Haiser et al., 2013; Kamada et al., 2013; Fulde & Hornef, 2014; Canfora et al., 2015; Devlin & Fischbach, 2015; Ijssennagger et al., 2015; Neuman et al., 2015; Yano et al., 2015; Gomma, 2020). Debido a este repertorio funcional tan diverso, es evidente por qué la microbiota intestinal es objeto de multitud de estudios sobre múltiples enfermedades crónico-degenerativas que incluyen las inflamatorias, metabólicas, autoinmunes, cardiovasculares, neurológicas, psiquiátricas y diversos tipos de cáncer (Li et al., 2014; Afzaal et al., 2022).

La microbiota intestinal representa una poderosa herramienta para influir en la salud humana, debido a que sus diversos atributos poseen un gran potencial biomédico. Además, es maleable y accesible, estableciendo una conexión con múltiples aspectos de la biología humana, lo que la convierte en una vía de acceso para la modulación de nuestra fisiología. Varios factores endógenos y exógenos influyen en el microbioma intestinal, entre los que se encuentran la respuesta inmune, el tipo de parto, la genética del huésped, los medicamentos (principalmente los antibióticos), los ciclos circadianos y la dieta (Cho et al., 2012; Maurice et al., 2013; David et al., 2014; Goodrich et al., 2014; Thaiss et al., 2014; Bäckhed et al., 2015; Wang et al., 2015; Falony et al., 2016; Zhernakova et al., 2016; Gomaa, 2020).

3.2 Microbiota intestinal y el efecto de la dieta

La primera evidencia que demostró que la dieta era capaz de modular la composición y función de la microbiota intestinal data de hace más de 100 años (Torrey, 1919). Un ejemplo interesante de la relación de la microbiota intestinal con la dieta se observó en un estudio pionero con roedores “libres de gérmenes”, que fueron inmunes a la obesidad inducida por la alimentación cuando se les alimentó con un estilo de dieta conocido como “occidental” que incluye alimentos procesados, hipercalóricos, altos en grasas y azúcares. Este estudio demostró el vínculo del metabolismo del huésped con la microbiota intestinal y su influencia en la ganancia de peso (Bäckhed et al., 2007).

Además, la selección microbiana en el tracto gastrointestinal se ve influenciada fuertemente por los hábitos alimentarios. Se ha observado que adultos sanos que participaron en una intervención nutricional donde se restringió la ingesta de vegetales

o alimentos de origen animal tuvieron modificaciones reproducibles y rápidas en la composición de la microbiota intestinal. También, se han asociado fuertemente los enterotipos con el tipo de dieta, particularmente *Bacteroides* con dietas proteicas y ricas en grasas de origen animal, mientras *Prevotella* se asoció con dietas altas en carbohidratos, observándose cambios en esta composición de manera muy rápida, que fueron detectables desde las 24 horas posteriores al inicio de la dieta (Wu et al., 2011b; David et al., 2014; Perler et al., 2023).

Así pues, la microbiota intestinal puede responder rápidamente a cambios en la dieta, por lo que esta capacidad puede ser una buena herramienta de modulación de los microorganismos intestinales que luego pueda tener efectos beneficiosos en el organismo. Lo que hará que predominen ciertos rasgos característicos de la composición de estas comunidades microbianas serán los hábitos alimenticios a largo plazo. Además, el cambio particular de ciertos alimentos o un tipo de dieta puede presentar variabilidad interindividual en los efectos debido a la particularidad de su microbiota intestinal (Sonnenburg & Bäckhed, 2016). Los microorganismos que habitan en el intestino producen numerosos metabolitos a través de vías metabólicas secundarias, varios de ellos provenientes de la dieta (Donia & Fischbach, 2015). Algunos de estos metabolitos se mantienen dentro del tracto gastrointestinal y son excretados, mientras que otros son absorbidos, pasan a la circulación sanguínea y son modificados y co-metabolizado por el huésped, para finalmente ser excretados fuera del organismo (Meyer & Hostetter, 2012; Perler et al., 2023). Aún queda mucho por investigar sobre el efecto en nuestra fisiología por el gran número de metabolitos microbianos derivados de los compuestos

de la dieta, como es el caso de los (poli)fenoles, y cómo estos compuestos tienen la capacidad de modular nuestras comunidades microbianas intestinales.

La interacción bidireccional entre la microbiota intestinal y los (poli)fenoles incluye i) el metabolismo microbiano de los (poli)fenoles y producción de metabolitos derivados y ii) la modulación de las comunidades microbianas por estos compuestos fenólicos, lo cual es fundamental para entender los efectos que estos tienen en la salud humana (Tzounis et al., 2008; Yokoyama et al., 2010; Braune et al., 2013; Beltrán et al., 2018). Cada vez hay más evidencia de que los metabolitos microbianos derivados del metabolismo de los compuestos fenólicos son el vínculo que hace falta para comprender y establecer la bioactividad de los (poli)fenoles, pero hay que tener en cuenta que esta interacción también es la responsable de la gran variabilidad que existe entre individuos (Cerdá et al., 2005; Braune et al., 2013; Selma et al., 2014a; Espín et al., 2017; Beltrán et al., 2018; Cortés-Martín et al., 2020a).

3.3 Modulación de la microbiota intestinal por los (poli)fenoles

Los (poli)fenoles pueden ser moduladores exógenos de la microbiota intestinal debido a sus propiedades antibacterianas conferidas por su estructura que incluye uno o más grupos fenólicos potencialmente tóxicos para los microorganismos. Además, sus efectos sobre los microbios intestinales incluyen la interacción sobre su desarrollo y metabolismo bacteriano general, interfiriendo en el metabolismo energético y la función de su membrana celular (Barbieri et al., 2017).

También, la mayoría de los (poli)fenoles tienen efectos sobre la comunicación y coordinación bacteriana, llamada *quorum sensing*, disminuyéndola por medio de las

moléculas sensoras acil-homoserina-lactonas (AHL), además de inhibir la formación de biopelículas. Algunos flavonoides pueden disminuir la expresión de genes relacionados con la motilidad y los flagelos bacterianos, así como reprimir la expresión de genes patógenos. También, los taninos son capaces de precipitar proteínas por lo que pueden inhibir enzimas extracelulares bacterianas, formar complejos con iones metálicos y provocar la privación de sustratos (Truchado et al., 2012; Slobodníková et al., 2016).

La actividad de la helicasa bacteriana es inhibida por los (poli)fenoles y pueden aumentar la permeabilidad del citoplasma de la membrana en ciertas bacterias como *Staphylococcus*. Algunos flavonoides pueden unirse a enterotoxinas, reducir la adhesión bacteriana y formar complejos con las membranas de las bacterias. Se ha observado la reducción en la expresión de gelatinasa, citolisinas y el antígeno de unión al colágeno, moléculas que son parte de los factores de virulencia bacteriana, además de afectar proteínas relacionadas con la supervivencia y respuesta al estrés (Daglia et al., 2014; Marín et al., 2015).

Hay ciertos carbohidratos dietéticos que inducen el crecimiento de microorganismos beneficiosos para la salud y son conocidos genéricamente como “prebióticos”. Sin embargo, este concepto clásico de prebiótico se ha reevaluado y ampliado recientemente dando cabida a los (poli)fenoles, ya que establece que *“un prebiótico es un compuesto no digerible que, a través de su metabolización por microorganismos en el intestino, modula la composición y/o actividad de la microbiota intestinal, confiriendo así un efecto fisiológico beneficioso en el huésped”* (Bindels et al., 2015; Gibson et al., 2017; Peng et al., 2020a). Por lo tanto, estos constituyentes dietéticos tienen el poder de promover el crecimiento de microorganismos beneficiosos como bifidobacterias y

lactobacilos. Adicionalmente, el concepto de “las 3 P para la salud intestinal”, que incluye prebióticos, probióticos y (poli)fenoles, pone a los (poli)fenoles al mismo nivel que los prebióticos en relación a los efectos saludables (Marchesi et al., 2016).

Se ha descrito el efecto prebiótico de los (poli)fenoles utilizando ensayos *in vitro*, estudios preclínicos en animales, y ensayos clínicos, en donde alimentos ricos en (poli)fenoles mostraron capacidad de modular la microbiota intestinal. Por ejemplo, han demostrado efectos prebióticos alimentos ricos en antocianinas y taninos hidrolizables y condensados, incluyendo cacao, té verde, semilla de uva, granada y arándanos (Dueñas et al., 2015; Plamada & Vodnar, 2021). El efecto prebiótico no sólo lo pueden ejercer los (poli)fenoles nativos, sino también los metabolitos microbianos derivados de su metabolismo por la microbiota intestinal. Un ejemplo, es el caso de las UROs, metabolitos producidos a partir del metabolismo microbiano de elagitaninos. Estos metabolitos fueron capaces de modular positivamente enterobacterias, lactobacilos y bifidobacterias en estudios preclínicos de inflamación intestinal (Larrosa et al., 2010; Cortés-Martín et al., 2020a).

Los (poli)fenoles también pueden modular otras especies microbianas específicas de la microbiota intestinal que se han relacionado con efectos beneficiosos para la salud, como es el caso de *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia spp.* y *Akkermansia muciniphila* (Remely et al., 2015; Plamada & Vodnar, 2021). El incremento de estos microorganismos, a través del consumo de extractos ricos en (poli)fenoles, promovió beneficios frente a inflamación intestinal, obesidad y diabetes, y disminuyó el ratio Firmicutes/Bacteroidetes, que se ha sugerido como mayor en un estado de obesidad y disfunción metabólica, remodelando la microbiota intestinal a una composición más

saludable (Miquel et al., 2013; Anhê et al., 2015; Roopchand et al., 2015; Moreno-Indias et al., 2016; Plamada & Vodnar, 2021).

3.4 Metabolismo microbiano de los (poli)fenoles

Así como la ecología microbiana que reside en el intestino es modulada por el consumo de (poli)fenoles, también se ha identificado que diferentes microorganismos son capaces de metabolizar estos compuestos. Sin embargo, varios estudios recientes han demostrado que existe una gran variabilidad interindividual en la producción de los metabolitos microbianos de los (poli)fenoles biológicamente activos, debido a que la microbiota intestinal es diferente en cada individuo. Por tanto, la actividad biológica potencial tras el consumo de (poli)fenoles es variable, ya que está condicionada por la composición cuali-cuantitativa de los microorganismos intestinales (Espín et al, 2017; Cortés-Martín et al., 2020a).

La mayoría de (poli)fenoles de la dieta son transformados en el tracto gastrointestinal de los mamíferos, incluido el ser humano, por la acción de la microbiota intestinal. Estas transformaciones influyen en el metabolismo, absorción y biodisponibilidad de estos compuestos, repercutiendo en los efectos que ejercen. Varias investigaciones, que incluyen estudios de intervención animales y humanos además de cultivos *in vitro* utilizando inóculos fecales, han demostrado cómo este microbioma intestinal metaboliza los (poli)fenoles a moléculas más pequeñas. A estos y otros metabolitos microbianos se les conocía como postbióticos, que hacen referencia a los subproductos metabólicos o componentes que son liberados por las bacterias (Espín et al, 2017; Cortés-Martín et al., 2020a), si bien el término “postbiótico” fue redefinido

recientemente como se comentará más adelante (Salminen et al., 2021).

La microbiota intestinal puede liberar las agliconas de los (poli)fenoles mediante reacciones de desconjugación de glucurónidos, glicósidos, ácidos orgánicos, aminoácidos y ácidos fenólicos (Selma et al., 2009; Espín et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2020a). Estas transformaciones realizadas por los microbios intestinales pueden continuar a través de reacciones de isomerización, deshdroxilación, reducción, fisión de anillos, desmetilación etc., y estas pueden ser diferentes según sea el grado de polimerización, la estructura molecular y la conformación espacial de los (poli)fenoles (Figura 3, Tabla 2) (Aura, 2008; Selma et al., 2009; Braune & Blaut, 2016; Ozdal et al., 2016; Espín et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2020a).

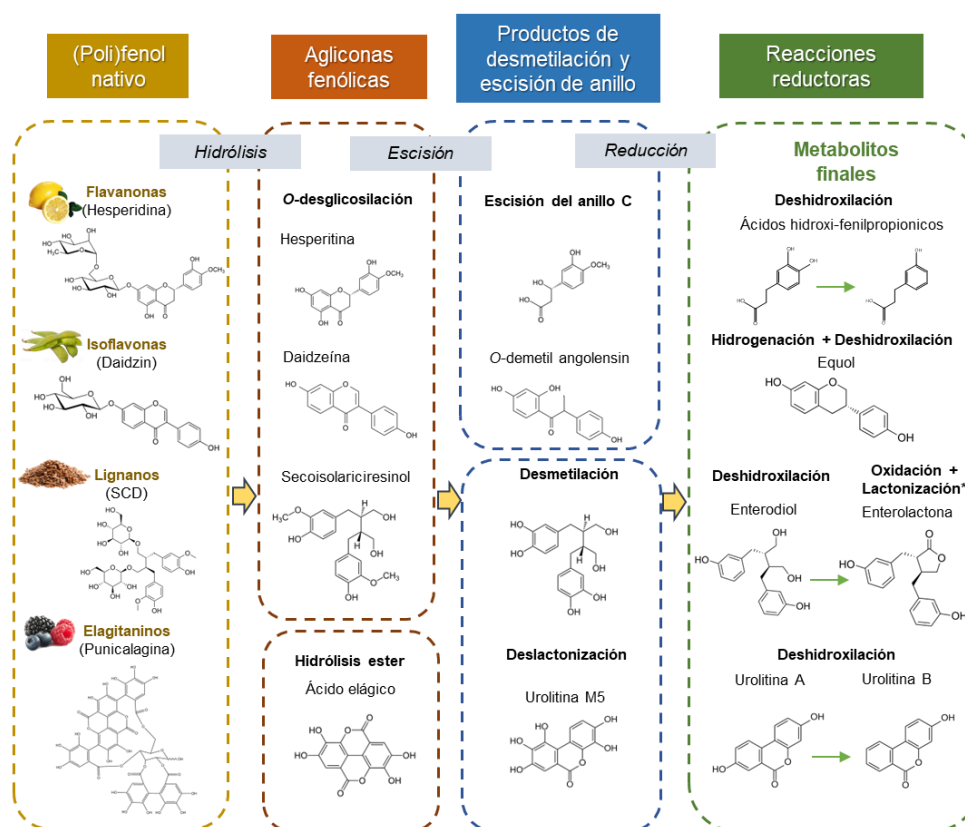


Figura 3. (Poli)fenoles y su metabolismo por la microbiota intestinal. SCG, secoisolariciresinol diglucósido. *La conversión de enterodiol a enterolactona no es una reducción. Adaptada de Espín et al., 2017.

Las enzimas microbianas fecales (α -ramnosidasa, β -glucosidasa y β -glucuronidasa) catalizan las desconjugaciones, y el grado de desconjugación de los compuestos fenólicos deriva de las actividades específicas de estas enzimas. Las agliconas aparecen de manera transitoria antes de continuar transformándose (**Tabla 2**) (Rechner et al. 2004; Aura, 2008; Murota et al., 2018). Varias reacciones, escisiones de grupos funcionales y la fisión del anillo fenólico son elementos característicos del metabolismo microbiano de las agliconas de flavonoides y ácidos fenólicos. El metabolismo microbiano adicional de los (poli)fenoles sólo puede suceder después de haber sido desconjugados y desglicosilados. Tras la desconjugación, algunos (poli)fenoles pueden formar anillos lactona si dos grupos hidroxilo están en posiciones adecuadas en el mismo anillo aromático, y posteriormente pueden romperse por la acción de la microbiota. Finalmente, los metabolitos microbianos fenólicos se excretan mayoritariamente como formas libres a través de las heces y como conjugados de fase-II por la orina (Heinonen et al., 2001; Aura, 2008; Murota et al., 2018; Murota et al., 2018).

Tabla 2. Bacterias intestinales y reacciones enzimáticas en los (poli)fenoles.

Filo	Familia	Reacción enzimática y especies bacterianas
Actinobacteria	<i>Eggerthellaceae</i>	Escisión anillo-C: <i>Adlercreutzia equolifaciens</i>, <i>Eggerthella</i> spp. SDG-2, <i>Eggerthella lenta</i>, <i>Slackia equolifaciens</i> Escisión de lactonas: <i>Gordonibacter urolithinfaciens</i>, <i>Gordonibacter pamelaee</i>, <i>Ellagibacter isourolithinfaciens</i> Deshidroxilación: <i>Adlercreutzia equolifaciens</i>, <i>Eggerthella lenta</i>, <i>Gordonibacter urolithinfaciens</i>, <i>Gordonibacter pamelaee</i>, <i>Ellagibacter isourolithinfaciens</i> Descarboxilación: <i>Gordonibacter urolithinfaciens</i>, <i>Gordonibacter pamelaee</i>, <i>Ellagibacter isourolithinfaciens</i> Reducción: <i>Adlercreutzia equolifaciens</i>, <i>Eggerthella lenta</i>, <i>Slackia equolifaciens</i>, <i>Slackia isoflavoniconvertens</i>
	<i>Bifidobacteriaceae</i>	Reducción: <i>Bifidobacterium animalis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium pseudolongum</i>
Firmicutes	<i>Clostridiaceae</i>	Escisión anillo-C: <i>Clostridium butyricum</i> Lactonización: <i>Lactonifactor longoviformis</i> Deshidroxilación: <i>Clostridium butyricum</i> Desmetilación: <i>Clostridium</i> sp.
	<i>Eubacteriaceae</i>	Escisión anillo-C: <i>Eubacterium ramulus</i> , <i>Eubacterium oxidoreducens</i>

		Deshidroxilación: <i>Eubacterium ramulus</i> Desmetilación: <i>Eubacterium limosum</i> , <i>Eubacterium callanderi</i>
	<i>Lachnospiraceae</i>	Escisión anillo-C: <i>Butyrivibrio</i> sp. Deshidroxilación: <i>Butyrivibrio</i> sp. Desmetilación: <i>Blautia producta</i> , <i>Blautia</i> sp.
	<i>Ruminococcaceae</i>	Escisión anillo-C: <i>Flavonifractor plautii</i> Deshidroxilación: <i>Flavonifractor plautii</i>
	<i>Lactobacillaceae</i>	Escisión anillo-C: <i>Lactobacillus plantarum</i> Desmetilación: <i>Lactobacillus</i>
	<i>Peptostreptococcaceae</i>	Desmetilación: <i>Peptostreptococcus productus</i>
	<i>Streptococcaceae</i>	Desmetilación: <i>Streptococcus</i>

Adaptada de Cortés-Martín et al. 2020a.

3.5 Metabolitos microbianos derivados de los (poli)fenoles

Los metabolitos derivados de los (poli)fenoles son las moléculas potencialmente activas o inactivas resultantes del metabolismo por la microbiota intestinal. Estos metabolitos incluyen compuestos como enterolactona, enterodiol, UROs, equol, valerolactonas y 8-prenilnaringenina (8PN), entre otros, que tienen diferentes efectos potenciales en la salud. Recientemente, estos metabolitos están siendo reconocidos como actores importantes implicados en los beneficios para la salud tras el consumo de (poli)fenoles (Espín et al., 2017; Anhê et al., 2019; Kawabata et al., 2019; Kumar Singh et al., 2019; Mills et al., 2019; Cortés-Martín et al., 2020a)

En cuanto a los metabolitos microbianos producidos a partir de flavonoides, los microorganismos intestinales pueden liberar múltiples fenólicos simples derivados de sus anillos A y B al ser capaces de romper el anillo C en diferentes posiciones. El tipo de fenólicos producidos estará afectado por las posiciones y patrón de hidroxilaciones presentes en el anillo B de estos compuestos (Selma et al., 2009). La microbiota intestinal puede seguir metabolizando más los flavonoides después de la fisión del anillo C mediante reacciones de deshidroxilación y desmetilación (Aura, 2008; Braune & Blaut, 2016; Ozdal et al., 2016). En los alimentos, la mayoría de los flavonoides se encuentran glicosilados (*O*-glicósidos, y *C*-glicósidos en menor medida), con la excepción de los flavanoles que no se encuentran conjugados. Los aldehídos con 1 a 3 radicales hidroxilo y metil éster, y los ácidos fenólicos, son los compuestos fenólicos más simples que se derivan de los anillos A y B y son liberados en el intestino después de que la microbiota metabolice y degrade los flavonoides (Selma et al., 2009; Espín et al., 2017).

Los compuestos fenólicos no-flavonoides, que incluyen los ácidos fenólicos

(hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos), estilbenos, lignanos y taninos hidrolizables, son un ejemplo de la enorme diversidad de estructuras que conforman los (poli)fenoles presentes en los alimentos vegetales, y debido a esta diversidad, su metabolización microbiana es más compleja. La complejidad química de su estructura será el primer componente que influye en la oportunidad de la microbiota intestinal para metabolizarlos (Selma et al., 2009; Cortés-Martín et al., 2020a).

Los fenólicos más complejos, los taninos hidrolizables como elagitaninos y galotaninos, sufren una hidrólisis de sus enlaces éster por medio de la acción de las enzimas tanin acil hidrolasas (tanases) de la microbiota intestinal. Tras las desglicosilación de los taninos, la microbiota intestinal puede transformar el ácido elágico y ácido gálico, liberados, respectivamente, de elagitaninos y galotaninos, por medio de deshidroxilaciones y descarboxilaciones para liberar metabolitos llamados nasutinas y que tienen dos grupos hidroxilo menos. Después, la transformación del ácido elágico continúa mediante la ruptura de la lactona seguido por una descarboxilación, lo que produce el metabolito llamado urolitina M5 (Uro-M5 o pentahidroxiurolitina). Las principales UROs detectadas *in vivo* serán generadas por deshidroxilaciones secuenciales, dando lugar a los metabolitos finales: Uro-A, isourolitina A (IsoUro-A) y urolitina B (Uro-B) (Tomás-Barberán et al., 2017; García-Villalba et al., 2022).

Los estilbenos también pueden ser transformados por la microbiota intestinal en compuestos más simples. Estos compuestos tienen una estructura C6-C2-C6 y RSV es el más estudiado debido a sus efectos beneficiosos en la salud humana (Tomé-Carneiro et al., 2013a; Hausenblas et al., 2015; Chaplin et al., 2018). La aglicona RSV es generada por la hidrólisis de su glucósido, conocido como *trans*-piceido (*trans*-resveratrol-3-O- β -

D-glucopiranosido), por medio de la microbiota intestinal (Basholli-Salihu et al., 2016). Ambos compuestos son absorbidos, aunque el *trans*-piceido en menor medida. Además, RSV puede ser glucosilado de nuevo en el intestino para producir *trans*-piceido nuevamente. Una vez absorbidos son ampliamente conjugados a sus correspondientes glucurónidos y sulfatos, que son las moléculas principalmente encontradas en la circulación sanguínea. El doble enlace de RSV y sus precursores puede ser reducido por acción de la microbiota intestinal, generando derivados como el dihidropiceido y DHRSV. También, como se comentó anteriormente, la microbiota es capaz de realizar deshidroxilaciones en estos metabolitos produciendo 3,4'-dihidroxi-*trans*-estilbeno (DHST) y 3,4'-dihidroxidibencilo (LUNU) (Bode et al., 2013; Springer & Moco, 2019).

Los lignanos pueden ser desglucosilados por acción de la microbiota intestinal produciendo compuestos con dos grupos fenólicos y una estructura 1,4-diarilbutano. Estas agliconas son siringaresinol, isolariciresinol, lariciresinol, marairesinol, pinioresinol y secoisolariciresinol. Los lignanos pueden ser también reducidos, desmetilados, deshidroxilados y sufrir reacciones de lactonización por medio de la actividad microbiana (Possemiers et al., 2007; Bess et al., 2020). Estos compuestos sufren varias transformaciones a través de complejas rutas metabólicas, dando lugar a varios metabolitos precursores e intermediarios y en las que están involucradas diversos microorganismos y diferentes patrones de conjugación. Finalmente, dan lugar a los productos terminales conocidos como enterolignanos, que incluyen al enterodiol y la enterolactona (Quartieri et al., 2016).

Una posible explicación a la variación importante en la producción de estos enterolignanos sería la oxidación enantioselectiva y posterior lactonización de

enterodiol a enterolactona (Jin et al., 2007; Jin & Hattori, 2010; Brito & Zang, 2018; Senizza et al., 2020).

Los ácidos fenólicos también pueden ser metabolizados por los microbios que habitan el tracto gastrointestinal. Las esterasas microbianas, como la cinamoil esterasa, tienen la capacidad de hidrolizar los ésteres de ácidos hidroxicinámicos (con estructura C6-C3) con los ácidos hidroxilados, como málico, tartárico y quínico, y diversos azúcares. A continuación, los ácidos fenilpropiónicos son producidos cuando los microorganismos reducen el doble enlace de los ácidos hidroxicinámicos. En diferentes niveles de la ruta catabólica se produce una β -oxidación que provoca el acortamiento de la cadena lateral del ácido fenilpropiónico, para finalmente descarboxilar los metabolitos de los hidroxicinamatos produciendo derivados hidroxibencenos, como catecol (benceno 1,2-diol) y resorcinol (benceno 1,3-diol) (Andreasen et al., 2001; Gonthier et al., 2006; Selma et al., 2009; Ozdal et al., 2016).

Aunque hay una amplia variedad de compuestos fenólicos diferentes en los alimentos vegetales, los productos finales generados al ser metabolizados son más limitados debido a que muchos de estos metabolitos son comunes para los distintos (poli)fenoles. Los ácidos fenólicos simples (ácidos hidroxibenzoicos) son los metabolitos más comunes producidos después de la degradación de la microbiota intestinal de los compuestos flavonoides y no flavonoides, y estas moléculas simples se pueden encontrar también comúnmente en la mayoría de frutas. El ácido gálico, el ácido protocatéquico y el ácido vanílico pueden seguir siendo transformados si presentan un hidroxilo libre en la posición 4, por la acción de las enzimas descarboxilasas microbianas, generando pirogalol, catecol y *O*-metilcatecol, respectivamente. La producción de los

metabolitos microbianos de (poli)fenoles puede variar ampliamente entre los individuos, tanto en la cantidad y concentración producida como en el tipo de estructuras producidas y detectadas en los biofluidos (Selma et al., 2009; Espín et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2020a).

La implicación de estos metabolitos microbianos en los beneficios para la salud de los (poli)fenoles podría ser debido, al menos en parte, a su capacidad para modular la ecología de la microbiota intestinal, y a su mayor biodisponibilidad, con la subsiguiente actividad preventiva frente a trastornos crónicos intestinales y sistémicos (Espín et al., 2017; Anhê et al., 2019; Kawabata et al., 2019).

En relación a esto, ha habido un gran progreso en la identificación de los efectos biológicos, mediados principalmente por actividades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, cardioprotectoras, neuroprotectoras y estrogénicas, de nuevos metabolitos de (poli)fenoles, destacando los derivados de lignanos, isoflavonas y elagitaninos. Muchos estudios *in vitro* han descrito los posibles beneficios para la salud ejercidos por los metabolitos derivados de lignanos como enterodiol y enterolactona, prenilflavonoides de lúpulo como 8PN, isoflavonas como equol y *O*-desmetilangolensina (ODMA), y derivados de elagitaninos, principalmente Uro-A (Frankenfeld et al., 2017, 2022; Tomás-Barberán et al., 2017; Štulíková et al., 2018; Mayo et al., 2019; Cortés-Martín et al., 2020a). Sin embargo, la evidencia de sus efectos en la salud en estudios *in vivo* es escasa y en humanos muy limitada (**Tabla 3**) (Espín et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2020a).

Tabla 3. Metabolitos microbianos derivados de (poli)fenoles y sus efectos saludables en humanos

Tipo de efecto saludable	Referencia	Características del estudio	Efectos saludables observados
Cardiovascular	<i>Yoshikata et al., 2018</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: observacional prospectivo Sexo: Mujeres Metabotipo: 65,3% ENP, 34,7 % EP N= 74 pacientes Duración: 1 año Dosis: 10 mg/día	Disminución de la rigidez arterial, mayoritariamente en mujeres de alto riesgo. Aumento en los niveles de LDLc, HDLc y Tchol, sin cambios significativos en el ratio LDL/HDL. No hubo diferencias significativas en los efectos entre EP y ENP.
	<i>Usui et al., 2013</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: aleatorizado, doble-ciego, placebo-controlado, cruzado, sin lavado Sexo: Ambos sexos Metabotipo: 67,9% ENP, 32,1% EP N= 49 pacientes con sobrepeso y obesidad Duración: 12 semanas Dosis: 10 mg	Mejora en la puntuación del índice vascular corazón-tobillo, y menores niveles de hemoglobina glucosilada A1c y LDLc. Mayores efectos en las mujeres ENP. No se observaron efectos en otros marcadores cardiovasculares y metabólicos.
	<i>Hazim et al., 2016</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: paralelo, placebo-controlado Sexo: Hombres Metabotipo: ENP N= 28 voluntarios con riesgo cardiovascular moderado Duración: 2 h (efecto agudo) Dosis: 40 mg	No se observaron cambios en los parámetro vasculares ni hemodinámicos ni vasculares, como el índice de hiperemia reactiva, la presión arterial diastólica y sistólica, el gasto cardíaco, el índice de aumentación y la velocidad de onda de pulso carótida-femoral.

Celular y metabólico	<i>Andreux et al., 2019</i>	Metabolito administrado: Uro-A Tipo de estudio: fase-I, aleatorizado, doble-ciego, placebo-controlado Sexo: Ambos sexos Metabotipo: ND N= 60 adultos mayores sanos Duración: 4 semanas Dosis: 250, 500 y 1.000 mg/día	Disminución de acilcarnitinas (función celular y mitocondrial) en plasma, y mejora en la regulación de la expresión génica mitocondrial en el músculo esquelético.
Cutáneo	<i>Oyama et al., 2012</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: aleatorizado, doble-ciego, placebo-controlado Sexo: Mujeres Metabotipo: ENP N= 101 voluntarias postmenopáusicas Duración: 10 o 30 mg/día Dosis: 12 semanas	Mejora en relación al envejecimiento de la piel con una reducción de la profundidad y área de las arrugas.
Hormonal	<i>Ishiwata et al., 2009</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: aleatorizado, doble-ciego, placebo-controlado Sexo: Mujeres Metabotipo: 65,7% ENP, 34,3 % EP N= 127 voluntarias pre, peri, post-menopáusicas Duración: 12 semanas Dosis: 10 mg/día o 3x día	Mejora del estado de ánimo y sintomatología relacionada con la menopausia, excepto en la depresión en mujeres ENP. Aumento de la vigorosidad y reducción de varios parámetros relacionados con la depresión, ansiedad, irritabilidad, desánimo y fatiga.
	<i>Aso et al., 2012</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: multicéntrico, aleatorizado, doble-ciego, placebo-controlado Sexo: Mujeres Metabotipo: ENP N= 126 mujeres postmenopáusicas Duración: 12 semanas Dosis: 10 mg/día	Mejora de sintomatología relacionada con la menopausia, como una reducción de la rigidez muscular de hombros y cuello, así como del grado y frecuencia de los sofocos.

	<i>Jenks et al., 2012</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: aleatorizado, doble-ciego Sexo: Mujeres Metabotipo: 70% ENP, 30% EP N= 102 voluntarias postmenopáusicas Duración: 10, 20 o 40 mg/día Dosis: 8 semanas	Mejora de sintomatología relacionada con la menopausia, como la mejora del dolor articular y muscular, además de la reducción de la frecuencia de los sofocos.
	<i>Yoshikata et al., 2021</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: unicéntrico, aleatorizado, placebo-controlado Sexo: Mujeres Metabotipo: 77,2% ENP, 22,8% EP N= 57 voluntarias postmenopáusicas Duración: 3 meses Dosis: 10 mg/día	Mejora de sintomatología relacionada con la climaterio, y en ciertos grupos de mujeres se identificó una mejora significativa en la autofluorescencia de la piel, medida de los productos finales de glicación avanzada, y en el área de grasa visceral, especialmente entre las mujeres EP.
Muscular	<i>Liu et al., 2022a</i>	Metabolito administrado: Uro-A Tipo de estudio: aleatorizado, doble-ciego, placebo-controlado Sexo: Ambos sexos Metabotipo: ND N= 66 adultos mayores Duración: 4 meses Dosis: 1 g/día	Disminución del deterioro muscular asociado a la edad. Mejora en la resistencia muscular y biomarcadores plasmáticos con la suplementación a largo plazo de Uro-A.
	<i>Singh et al., 2022a</i>	Metabolito administrado: Uro-A Tipo de estudio: aleatorizado, doble-ciego, placebo-controlado Sexo: Ambos sexos Metabotipo: ND N= 88 adultos con sobrepeso Duración: 4 meses Dosis: 500 o 1.000 mg/día	Mejora de la fuerza muscular, el rendimiento en el ejercicio y los biomarcadores de la salud mitocondrial.

Óseo	<i>Tousen et al., 2011</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: doble-ciego, aleatorizado, placebo-controlado Sexo: Mujeres Metabotipo: ENP N= 93 voluntarias postmenopáusicas Duración: 1 año Dosis: 2, 6 o 10 mg/día	Mejora en marcadores de resorción ósea como desoxipiridinolina en orina y leve reducción de pérdida ósea. Prevención de la reducción de la densidad mineral ósea. La concentración plasmática de las hormonas tiroideas y sexuales no se vio alterada.
	<i>Yoshikata et al., 2018</i>	Metabolito administrado: S-equol Tipo de estudio: observacional prospectivo Sexo: Mujeres Metabotipo: 65,3% ENP, 34,7 % EP N= 74 pacientes Duración: 1 año Dosis: 10 mg/día	Disminución de parámetros de riesgo de resorción ósea y riesgo de fractura en mujeres con moderado y alto riesgo de aterosclerosis.

Adaptada de Cortés-Martín et al. (2020a). ND, no hay datos disponibles; EP, productores de equol; ENP, no productores de equol; LDLc, colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; HDLc, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; Tchol, colesterol total.

Se han llevado a cabo pocos estudios en humanos utilizando equol y Uro-A (**Tabla 3**) (Ishiwata et al., 2009; Tousen et al., 2011; Aso et al., 2012; Jenks et al., 2012; Oyama et al., 2012; Usui et al., 2013; Hazim et al., 2016; Yoshikata et al., 2018; Andreux et al., 2019; Yoshikata et al., 2021; Singh et al., 2022a, 2022b; Liu et al., 2022a). Uro-A ha sido reconocida como GRAS (Generally Recognized As Safe) por parte de la FDA de EE.UU., además de constatarse su seguridad en estudios preclínicos (Heilman et al., 2017; Andreux et al., 2019; Singh et al., 2019), por lo que se espera un aumento de su uso en futuros ensayos clínicos que exploren sus efectos específicos sobre la salud humana. Sin embargo, otros metabolitos derivados de (poli)fenoles como IsoUro-A, Uro-B, ODMA, enterolignanós, DHRSV, LUNU y derivados de hidroxifenilvalerolactonas, entre otros, no han sido utilizados hasta la fecha en estudios humanos de intervención (Cortés-Martín et al., 2020a).

En general, aunque queda mucho por investigar para considerar el uso de metabolitos derivados de los (poli)fenoles como una alternativa efectiva preventiva y/o terapéutica contra enfermedades crónicas, la evidencia sobre sus efectos en la salud está aumentando y se está consolidando su papel como mediadores de los beneficios promovidos por el consumo de (poli)fenoles de la dieta (Cortés-Martín et al., 2020a).

3.6 Variabilidad interindividual en el metabolismo de los (poli)fenoles

Sabemos que la administración de medicamentos y exposición a diferentes xenobióticos tiene una respuesta ampliamente variable en la población. De igual forma, se ha observado que el metabolismo de diferentes compuestos fenólicos como elagitaninos, catequinas, flavanonas e isoflavonas presenta una marcada variabilidad

entre individuos (Marchant, 1981; Lu & Anderson, 1998; Bourian et al., 1999; Lee et al., 2002; Cerdá et al., 2005). Por otro lado, se ha sugerido que la diversidad en las estructuras de los (poli)fenoles podría ser la responsable de afectar esta variabilidad en los efectos descritos sobre componentes de enfermedades, cómo el riesgo cardiovascular, y ser un factor crucial que afectaría su metabolismo (Menezes et al., 2017; Raman et al., 2019; Mozos et al., 2021).

Muchos (poli)fenoles dietéticos comparten dianas en sus mecanismos de acción a pesar de ser estructuralmente diferentes (Williamson et al., 2018). La notable variabilidad interindividual que existe en la respuesta al consumo de (poli)fenoles evita poder generalizar sus efectos en la salud de la población, y el rechazo de las declaraciones de salud de los (poli)fenoles por parte de la EFSA podría ser debido a esto. En cambio, las recomendaciones dietéticas deberían ser individualizadas, debido a la participación de muchas variables específicas y la complejidad de las condiciones de cada individuo como su fisiología, microbiota intestinal, sexo, edad, estilo de vida, características genéticas, además de otros factores externos como los patrones de alimentación y el procesamiento y matriz de los alimentos. Sin embargo, sabemos que no todos los aspectos y condiciones contribuyen por igual, y se desconoce la importancia y peso de cada contribuyente (Bohn et al., 2015; Cassidy & Minihane, 2017; Milenkovic et al., 2017; Scholl et al., 2018; Cortés-Martín et al., 2019a, 2020a; Tomás-Barberán & Espín, 2019; Zhao et al., 2020).

Tras la ingesta de (poli)fenoles, la interacción bidireccional entre ellos y la microbiota intestinal es el principal impulsor de la variación interindividual observada en los efectos en la salud (Espín et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2020a; Kerimi et al., 2020). La

microbiota individual de cada individuo, además de influir en la bioactividad ejercida por los (poli)fenoles ingeridos y sus metabolitos microbianos, también es relevante para explicar los efectos finales.

Por ejemplo, una explicación posible, sugerida inicialmente tras los efectos observados después del consumo de alimentos que contenían elagitaninos, compuestos que no son biodisponibles, fue la presencia en la circulación sanguínea de sus metabolitos microbianos bioactivos, las UROs (Cerdá et al., 2004, 2005). Sin embargo, no todos los individuos producen el mismo perfil de UROs ni albergan a los mismos microorganismos intestinales asociados (Romo-Vaquero et al., 2019; Cortés-Martín et al., 2020a). De manera similar, se ha sugerido que el metabolito microbiano de la daidzeína conocido como equol, específicamente el enantiómero (*S*)-(-)equol (la microbiota es enantioespecífica y sólo produce el enantiómero *S*; Setchell et al., 2005) tiene una mayor bioactividad que su precursor y solo es producido por algunos individuos (“productores de equol”) (Setchell et al., 2002b; Mayo et al., 2019).

Aún no está claro si los compuestos fenólicos ingeridos en la dieta y/o sus metabolitos microbianos, además de sus conjugados de fase-II, participan activamente en los efectos después del consumo de alimentos ricos en (poli)fenoles, o si estos efectos están mediados indirectamente por cascadas de señalización (“efecto billar”) donde la interacción directa de la molécula con el tejido o diana sistémica no sea necesaria. Muchas variables impiden establecer una relación de causa y efecto bien establecida. Por ejemplo, el perfil interindividual variable de metabolitos microbianos derivados de ciertos (poli)fenoles es uno muy importante a considerar (Cortés-Martín et al., 2020a).

4. Metabotipos de (poli)fenoles asociados a la microbiota intestinal

El término "metabotipo", en el contexto del metabolismo y efecto en la salud de los (poli)fenoles, se refiere a un metabolismo intestinal microbiano diferencial de dichos compuestos fenólicos. Inicialmente, este término fue acuñado por Bolca et al. (2013), y fue revisado más tarde por Espín et al. (2017), como el fenotipo metabólico definido por a) la existencia de metabolitos derivados de la microbiota intestinal, característicos del metabolismo de su precursor fenólico y b) la ecología microbiana implicada en este metabolismo, en términos de composición y actividad, y que a su vez puede ejercer un efecto en la salud humana. Cada vez es más evidente que no existe una dieta única ideal para todos, que la respuesta de los individuos a las intervenciones dietéticas es diferente, y que los efectos pudieran estar determinados por las características de la microbiota individual (Cotillard et al., 2013; Zeevi et al., 2015; Cortés-Martín 2020a). Varios estudios sugieren que una posible estrategia para explicar la variabilidad interindividual de los efectos observados después del consumo de (poli)fenoles, sería el "metabotipado" o agrupación de los individuos dentro de los diferentes metabotipos que han sido descritos (Espín et al., 2017; Frankenfeld, 2017; González-Sarrías et al., 2017b; Morand & Tomás-Barberán, 2019; Romo-Vaquero et al., 2019; Cortés-Martín et al., 2020a; Palmnäs et al., 2020; Meroño et al., 2022). Vincular los metabotipos de (poli)fenoles al concepto de "nutrición personalizada", en la prevención y manejo de enfermedades desde un enfoque dietético, podría explicar resultados controvertidos encontrados en diferentes estudios, pudiéndose solucionar mediante el diseño de intervenciones dietéticas personalizadas de dietas ricas en (poli)fenoles, según las

características de los individuos (Pérez-Martínez et al., 2012; Espín et al., 2017; González-Sarrías et al., 2017b; Kolodziejczyk et al., 2019; Cortés-Martín et al., 2020a).

Aún no está claro el principal responsable de los efectos en la salud observados después del consumo de (poli)fenoles, ya sea la microbiota particular asociada a cada metabotipo, los metabolitos microbianos derivados de los (poli)fenoles dietéticos o ambos (Cortés-Martín 2020a). Ajustarse a la definición de metabotipo (en el contexto del metabolismo de (poli)fenoles por la microbiota intestinal) implica que no se considere la existencia de metabotipos en el metabolismo de (poli)fenoles que no producen metabolitos diferenciales según el individuo, como por ejemplo en el caso de procianidinas y flavan-3-oles, flavanonas, prenilflavonoides, flavonoles, etc. En todos estos casos lo que se observa es un gradiente de producción de metabolitos intermediarios cuyo metabolismo continúa hasta otros metabolitos simples (ácidos fenólicos simples, entre otros), comunes al catabolismo de casi todos los (poli)fenoles. Aunque los individuos se puedan diferenciar entre altos- y bajos- productores de metabolitos, esto se ve influenciado por muchas variables externas (dosis consumida, umbral arbitrario para considerar alto o bajo productor, sensibilidad de métodos analíticos, etc.) que impiden una agrupación inequívoca de individuos según su metabolismo diferencial por metabotipos (Cortés-Martín et al., 2019a, 2020a). Por lo tanto, el término metabotipo hace referencia a un criterio cualitativo en relación a la ecología microbiana que alberga cada individuo y su funcionalidad, es decir, la producción *versus* la no producción de los metabolitos microbianos, lo cual está menos influenciado por factores externos que si el criterio es cuantitativo.

A continuación, se describen aquellos metabotipos humanos de los (poli)fenoles que han sido identificados hasta la fecha, y que se refieren al metabolismo de los (poli)fenoles por ecologías microbianas intestinales específicas que producen metabolitos distintivos. Los metabotipos sólo se han descrito inequívocamente para los elagitaninos y ácido elágico, así como isoflavonas como daidzeína, (poli)fenoles de los que se producen los metabolitos microbianos UROs y equol, respectivamente (Espín et al., 2017; Frankenfeld, 2017; Tomás-Barberán et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2018; Cortés-Martín et al., 2020a).

4.1 Metabotipos de urolitinas

Se han identificado tres metabotipos en el caso del metabolismo microbiano del ácido elágico (metabotipos de UROs, UMs) dependiendo de los metabolitos microbianos finales producidos (**Figura 4**) (Tomás-Barberán et al., 2014; Espín et al., 2017; Tomás-Barberán et al., 2017; García-Villalba et al., 2022):

- **Metabotipo A (UMA)**: Caracterizado por la producción sólo de Uro-A como catabolito final del metabolismo microbiano de elagitaninos y ácido elágico.
- **Metabotipo B (UMB)**: Caracterizado por la producción de IsoUro-A y Uro-B, además de Uro-A, como metabolitos finales del metabolismo microbiano de elagitaninos y ácido elágico.
- **Metabotipo 0 (UM0)**: Caracterizado por no producir ninguno de estos tres metabolitos finales tras el consumo elagitaninos y ácido elágico, detectándose sólo Uro-M5.

Por tanto, la capacidad de producción singular de estas UROs finales son las características de estos metabotipos. Factores como la edad, influyen en la distribución en la población de estos metabotipos, sobre todo en el caso de los UMA y UMB, mientras que la incidencia del UM0 en la población sana es constante desde la infancia hasta la vejez, representando aproximadamente el 10%, si bien este porcentaje puede ser algo mayor o menor según grupos de individuos y localización (Cortés-Martín et al., 2018). Por lo tanto, la baja prevalencia del UM0 ha sido un obstáculo para obtener resultados en diversos estudios, evitando poder establecer conclusiones sobre la no producción de estas UROs y su posible implicación en la salud (González-Sarriás et al., 2017b; Nuñez-Sánchez et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2019b; Cortés-Martín et al., 2021). En cambio, la proporción de UMA disminuye con la edad (pasando del 85% al 55% de los individuos), mientras que la proporción del UMB aumenta progresivamente (desde un 15% en la infancia hasta un 45% en la edad adulta). El periodo de vida donde este cambio se vuelve más notable es entre los 20 y 40 años, y a partir de esta edad, las proporciones de los tres UMs permanecen relativamente constantes (Cortés-Martín et al., 2018).

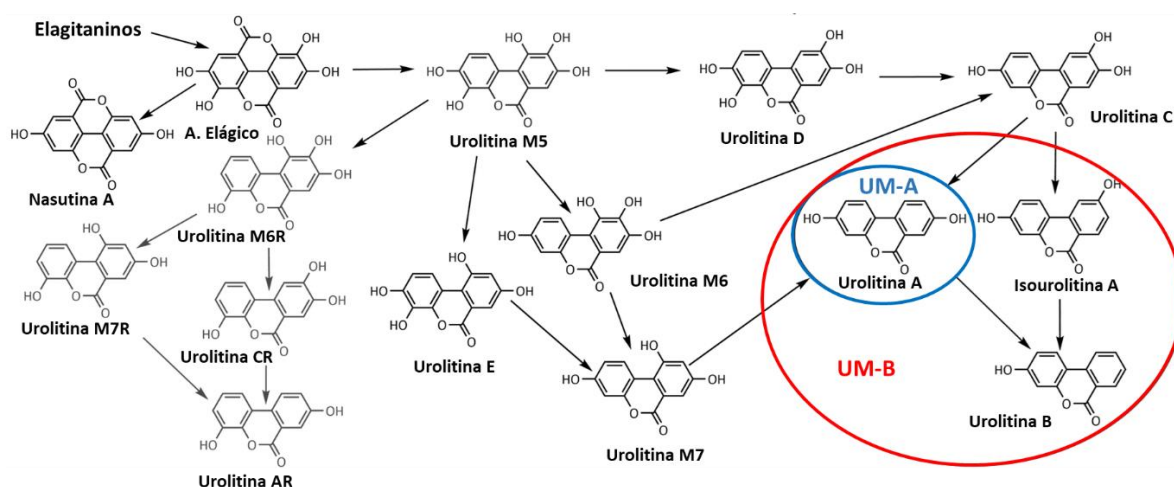


Figura 4. Perfiles metabólicos en los metabotipos de urolitinas. UMA, metabotipo A (círculo azul); UMB, metabotipo B (círculo rojo). Adaptada de Cortés-Martín et al., 2020a

En general, los UMs son estables en los individuos a lo largo del tiempo, si bien algunos no productores (UM0) pueden pasar a producir UROs, convirtiéndose en UMA o UMB después del consumo de dosis elevadas de elagitaninos presentes en un alimento o nutraceutico (González-Sarrías et al., 2017b). Esto plantea si estos individuos realmente no producían UROs inicialmente, o en realidad eran productores muy bajos que necesitaron una exposición de altas dosis durante varias semanas para modular su microbiota y así poder producir UROs.

Los UMs han sido asociados con el estado de salud, observándose una relación entre un IMC mayor y enfermedades gastrointestinales con el UMB. Esto podría estar mediado por una disbiosis de la microbiota intestinal de los individuos pertenecientes a este UM (Tomás-Barberán et al., 2014; Selma et al., 2016; Romo-Vaquero et al., 2019). Sin embargo, esto no ha sido confirmado de manera inequívoca por otros estudios por lo que harían falta más investigaciones (Cortés-Martín et al., 2018, 2020a).

Actualmente, no hay una asociación clara de los UMs con el sexo, la dieta o raza. Interesantemente, un estudio reciente identificó cómo la distribución de UMs y la microbiota intestinal de mujeres que acababan de ser madres y presentaban disbiosis, fue cambiando durante un año, para asemejarse a la distribución de metabotipos de la población general (Cortés-Martín et al., 2019b).

4.1.1 Microorganismos intestinales modulados e implicados en el metabolismo de elagitaninos

Los elagitaninos y galotaninos pueden ser hidrolizados por bacterias y hongos con la capacidad hidrolizar compuestos de alto peso molecular liberando moléculas de ácido elágico y ácido gálico. Bacterias aisladas de diferentes fuentes, principalmente de

intestinos de humanos y animales, presentan actividades tanin acil hidrolasa o tanasa que son las necesarias para llevar a cabo esta hidrólisis. Entre estos microorganismos encontramos a *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* y *Lactobacillus pentosus* pertenecientes a las bacterias ácido lácticas (BAL). Su implicación en la hidrólisis de (poli)fenoles de alto peso molecular, podría explicar el efecto prebiótico de estos (poli)fenoles promoviendo el crecimiento de los lactobacilos intestinales (Aguilar-Zarate et al., 2014; Tomás-Barberán et al., 2016). En otros géneros bacterianos como *Roseburia*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* y *Slackia*, también se han identificado genes homólogos al gen de tanasa presente en *L. plantarum* (López de Felipe et al., 2014).

Una vez liberado el ácido elágico, diferentes especies pertenecientes al género *Gordonibacter* son capaces de metabolizarlo hasta algunas UROs, además de asociarse positivamente con los niveles de Uro-A en heces y orina, y con UMA, mientras que esta asociación ha sido inversa con UMB y la producción de Uro-B e IsoUro-A (Selma et al., 2014b, 2017, 2018; Beltrán et al., 2018; Romo-Vaquero et al., 2015, 2019). Estas bacterias, *Gordonibacter urolithinifaciens* y *Gordonibacter pamelaee*, pertenecientes a la familia *Eggerthellaceae* (recientemente separada de la familia *Coriobacteriaceae*), son responsables de la producción secuencial de Uro-M5, Uro-M6 y Uro-C, mientras que la producción de Uro-A, IsoUro-A y Uro-B por estas bacterias no se ha observado en cultivos puros (Selma et al., 2014a; 2014b).

Otra especie bacteriana implicada en la producción de las UROs es *Ellagibacter isourolithinifaciens*, aislada de las heces de un voluntario sano y capaz de metabolizar ácido elágico a varias UROs intermedias como Uro-M5, Uro-M6 y Uro-C, y la final IsoUro-A. Además, se ha observado una asociación positiva entre *Ellagibacter* y UMB y la

producción de IsoUro-A y Uro-B (Selma et al., 2017; Beltrán et al., 2018; Romo-Vaquero et al., 2019). Varios estudios han demostrado que el género *Ellagibacter* predomina en individuos UMB en comparación con los del UMA (Romo-Vaquero et al., 2019; Cortés-Martín et al., 2019b). Además, *Ellagibacter* también fue detectado en muestras fecales de mujeres asiáticas sólo después de consumir una bebida simbiótica que contenía fibra dietética y oligosacáridos además de un cóctel de cepas probióticas (Lee et al., 2020).

Dentro de la familia *Coriobacteriaceae* (actual *Eggerthellaceae*), se han descrito varias especies con la capacidad de metabolizar los (poli)fenoles dietéticos (Selma et al., 2009; Romo-Vaquero et al., 2019; Cortés-Martín et al., 2020a). La abundancia de la familia *Coriobacteriaceae* fue mayor para los individuos dentro del UMB en comparación con UMA y UM0. Además, se han confirmado niveles altos de *Gordonibacter* y la familia *Eubacteriaceae* en el UMA, correlación que ya se había establecido en estudios previos para el caso de *Gordonibacter* (Romo-Vaquero et al., 2015; González-Sarriás et al., 2017b; Selma et al., 2018). Un estudio sugirió el aumento en los niveles de *Gordonibacter* con beneficios cardiovasculares después del consumo de nueces, ricas en elagitaninos. Sin embargo, no se encontró un vínculo directo con ninguno de los biomarcadores de riesgo. Otros estudios han encontrado una asociación inversa de los niveles de *Gordonibacter* con marcadores de riesgo cardiovascular, así como con enfermedades inflamatorias, después del consumo de fuentes ricas en elagitaninos (Lewis et al., 2015; Selma et al., 2018). Además, la presencia de menores niveles de esta bacteria también se ha relacionado con otras enfermedades como enfermedad de Parkinson y atrofia multisistémica (Du et al., 2019). Por otro lado, el aumento de los

niveles de *Ellagibacter*, tras el consumo del simbiótico mencionado previamente, se correlacionó inversamente con el IMC de las voluntarias (Lee et al., 2020).

La variabilidad interindividual en el metabolismo de los elagitaninos y la distribución de los UMs se ha relacionado con diferencias en los microorganismos intestinales. Un estudio previo caracterizó la microbiota intestinal humana asociada a los UMs y no encontró coincidencia con la de los enterotipos *Prevotella*, *Bacteroides* y *Ruminococcus* (Romo-Vaquero et al., 2019). El UM0 presentaba una menor diversidad y riqueza bacteriana, en comparación con el UMA y el UMB. En cambio, estos índices eran similares en los tres enterotipos (Romo-Vaquero et al., 2019). En los individuos no productores de UROs, UM0, su menor alfa-diversidad va acompañada de una menor abundancia de diferentes géneros bacterianos como *Alistipes*, *Butyricimonas*, *Phascolarctobacterium* y *Bilophila*.

Entre los individuos productores de UROs, la clase Coriobacteriia está incrementada en los del UMB, además de correlacionarse positivamente con los niveles plasmáticos de LDLc, el IMC y colesterol total (Tchol) (Martínez et al., 2013; Clavel et al., 2014; Romo-Vaquero et al., 2019). Estos resultados coinciden con otros estudios en los que se observaron mayores niveles de estos lípidos sanguíneos en obesos UMB (González-Sarrías, et al., 2017b; Selma et al., 2018). *Methanobrevibacter*, *Gammaproteobacteria*, *Methanosphaera* y *Parvimonas* son géneros bacterianos relacionados con la inflamación y que también se han visto mayormente aumentados en los individuos UMB, indicando una microbiota intestinal más proinflamatoria en este metabotipo. Por el contrario, en el caso del UMA, se han observado mayores niveles de la familia *Eubacteriaceae*, que también se ha correlacionado positivamente con la apolipoproteína-A. Estos resultados

parecen asociar al UMB con un metabotipo propenso a la disbiosis intestinal y riesgo cardiovascular, lo que parece alinearse con estudios previos que lo relacionaron con un mayor riesgo cardiovascular (González-Sarrías, et al., 2017b; Selma et al., 2018). Sin embargo, hacen falta más estudios que indaguen en esta cuestión ya que esto no se confirmó en una gran cohorte de manera inequívoca (Cortés-Martín et al., 2018).

Por otro lado, un estudio de intervención dietética en la que voluntarios consumieron nueces, alimento rico en elagitaninos, encontró un incremento de la clase Coriobacteriia y los géneros *Blautia* y *Bifidobacterium*. En este mismo estudio, se observó que el UMB parecía más sensible al consumo de nueces, ya que sólo en este grupo hubo un aumento del género *Gordonibacter*. En cuanto al UMA, otros géneros de la familia *Lachnospiraceae* disminuyeron tras el consumo de nueces (García-Mantrana et al., 2019).

En general, la evidencia actual es escasa, pero sugiere que la microbiota intestinal de los individuos UMA podría ejercer un papel protector, mientras que en el UMB podría ser propensa a la disbiosis y tener relación con trastornos cardiometabólicos (Romo-Vaquero et al., 2019; Cortés-Martín et al., 2020a). Es importante resaltar que encontrar asociaciones específicas entre algunos factores de riesgo de enfermedades y microorganismos específicos no son evidencia suficiente para probar su implicación en los efectos en la salud. En cuanto a los microorganismos identificados hasta el momento como productores de UROs, *Gordonibacter* y *Ellagibacter*, siguen haciendo falta más estudios que sean capaces de confirmar sus implicaciones en la salud humana. *Aún se desconocen otras bacterias implicadas en el metabolismo de las UROs, capaces de completar los diferentes pasos de las rutas metabólicas de ambos UMs y qué efectos*

tendrían en la salud humana. Además, aún no se ha explorado la utilización de estas bacterias in vivo, para probar si serían capaces de replicar los respectivos UMs.

4.1.2 Metabolitos derivados del metabolismo de los elagitaninos y sus efectos en la salud

Como se ha comentado, tras la hidrólisis de los ETs, el ácido elágico liberado es convertido en UROs por la microbiota intestinal. El nombre genérico de las UROs incluye diferentes derivados hidroxilados de la 6H-dibenzo[*b,d*]piran-6-ona, y se consideran dentro de las benzocumarinas o dibenzo- α -pironas por su estructura química (García-Villalba et al., 2022). El primer compuesto natural de esta familia fue descubierto en 1946 y es el pigmento I, aislado del castóreo, con una estructura de 3,8-dihidroxi-6H-dibenzo[*b,d*]piran-6-ona. Quince años después, estos compuestos fueron aislados del cálculo renal de ovejas por lo que recibieron el nombre de Uro-A y Uro-B (Lederer, 1949; Pope, 1964).

La conversión de ácido elágico a UROs comienza con la apertura de uno de los anillos lactona por la actividad lactonasa de la microbiota intestinal para producir un intermediario transitorio llamado ácido luteico, que no es detectable debido a ser inmediatamente descarboxilado, seguramente debido a la acción de la microbiota intestinal mediante enzimas decarboxilasas para producir Uro-M5, una URO que contiene 5 grupos hidroxilo que es un intermediario importante en la producción de las demás UROs. A partir de Uro-M5, se producen y detectan tres tetrahidroxi-urolitinas que son Uro-D, Uro-E y Uro-M6, que luego serán transformadas en las trihidroxi-urolitinas Uro-C y M7. Estas trihidroxi-urolitinas dan lugar a los principales metabolitos finales detectados *in vivo*: las dihidroxi-urolitinas Uro-A (3,8-dihidroxiurolitina) e IsoUro-

A (3,9-dihidroxiurolitina), y la hidroxurolitina Uro-B (3-hidroxiurolitina) (García-Villalba et al., 2013; 2020).

En los últimos años, otras UROs intermediarias se han descrito, como Uro-M6R, M7R, CR y AR. Ambos UMs, UMA y UMB, son capaces de producir estas nuevas UROs, y su producción tiene en común que es necesaria la actividad 3-deshidroxilasa bacteriana (García-Villalba et al., 2019). *Sin embargo, dada la capacidad metabólica de la microbiota intestinal, no sabemos si aún quedan por describir nuevas urolitinas o isómeros de las existentes.*

Las UROs específicas han sido relacionadas con los marcadores de riesgo cardiovascular de individuos con sobrepeso y obesidad. Por ejemplo, los niveles de Uro-A se han correlacionado inversamente con los niveles de glucosa en individuos con disfunción metabólica. Además, los niveles de IsoUro-A y Uro-B fueron correlacionados positivamente con varios marcadores de riesgo cardiovascular como IDLc, VLDLc, oxLDL, apolipoproteína B, LDLc y Tchol, mientras que Uro-A se correlacionó positivamente con los niveles de lipoproteínas cardioprotectoras como apolipoproteína (González-Sarrías et al., 2017b; Selma et al., 2018). También, se ha observado una respuesta diferencial entre los individuos que pertenecían al UMB que mejoraron en el panel de marcadores de riesgo cardiovascular después del consumo de (poli)fenoles, en comparación con los que eran UMA que no lo hicieron, sugiriendo un mayor efecto del consumo de estos compuestos en los primeros individuos. Los cambios en LDLc se correlacionaron con conjugados de Uro-A, IsoUro-A y Uro-B, además de que los niveles de Uro-A en orina se relacionaron con la disminución de LDLc, no-HDLc, Tchol, apolipoproteína A-I y HDLc intermedia (González-Sarrías et al., 2017b; Selma et al., 2018). Un estudio en más de

400 niños y adolescentes reveló que la obesidad era más prevalente en UMB y UM0, en varones, en la franja de 9 a 12 años (Cortés-Martín et al., 2020b). Sin embargo, esta asociación fue multifactorial, interviniendo también una baja adherencia a dieta mediterránea y un consorcio específico de 24 polimorfismos genéticos relacionados con obesidad (Cortés-Martín et al., 2020b).

Por otro lado, otros estudios no han encontrado una correlación significativa entre marcadores relacionados con el cáncer, endotoxemia metabólica y el perfil lipídico en pacientes con cáncer colorrectal, obesidad y sanos, respectivamente, y las UROs presentes en biofluidos o tejidos (Puupponen-Pimiä et al., 2013; Nuñez-Sánchez et al., 2017; González-Sarriás et al., 2018a, 2018b).

También, se ha descrito recientemente que pacientes con síndrome metabólico polimedicados presentaron una distribución alterada de producción de UROs (Cortés-Martín et al., 2021). Este estudio clínico demostró que la polimedicación de los pacientes fue un factor determinante en el efecto prebiótico del extracto rico en elagitaninos que consumieron los voluntarios. Mientras que la endotoxemia metabólica mejoró de forma leve pero significativamente en todos los voluntarios, la molécula de adhesión intercelular soluble-1 (sICAM-1) sólo mejoró en aquellos pacientes que consumieron hipolipemiantes (Cortés-Martín et al., 2021).

Todo lo anterior pone de relieve que la investigación sobre las UROs ha explorado su impacto en diversas condiciones de salud, incluyendo enfermedades cardiovasculares, trastornos neurodegenerativos, cáncer, trastornos metabólicos y condiciones relacionadas con la inflamación. Las UROs han demostrado tener una bioactividad prometedora, incluyendo propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, y

antineurodegenerativas, convirtiéndolas en posibles moléculas candidatas como agentes terapéuticos en el tratamiento de diversas enfermedades crónicas (García-Villalba et al., 2022).

Sin embargo, hacen falta más pruebas causa-efecto entre las UROs y sus derivados, que circulan o son excretados, y efectos específicos en la salud de los individuos. La inconsistencia en los resultados obtenidos hasta la fecha podría deberse, en parte, a la considerable variabilidad en la producción de estos metabolitos por la microbiota intestinal, además de la influencia de otros factores como su interacción con el metabolismo de otros fenólicos (García-Villalba et al., 2022).

4.2 Metabotipos de isoflavonas

El metabolismo microbiano de isoflavonas de la dieta, principalmente daidzeína, en el intestino humano da como resultado la existencia inequívoca de dos metabotipos distintivos (**Figura 5**) (Frankenfeld et al., 2005; Mayo et al., 2019):

- **Productores de equol (EP)**: Caracterizado por individuos que tienen la capacidad de producir el metabolito microbiano equol a partir de las isoflavonas, principalmente de la daidzeína.
- **No productores de equol (ENP)**: Caracterizado por individuos que no pueden producir equol tras el consumo de isoflavonas.

También se ha propuesto el metabotipo de producción de ODMA, otro metabolito microbiano derivado de las isoflavonas (Frankenfeld et al., 2022). Sin embargo, este metabotipo aún no ha sido inequívocamente demostrado pues en numerosos estudios se describe que el 90% o incluso la totalidad de los individuos producen ODMA

(Heinonen et al., 1999; Frankenfeld, 2017; Mayo et al., 2019). Por otra parte, a partir de la genisteína también se ha detectado la producción de los metabolitos 6'-hidroxi-ODMA y 5-hidroxi-equol que no han sido considerados en la estratificación de los metabotipos de las isoflavonas (Matthies et al., 2012; Mayo et al., 2019). La distribución de producción de estos metabolitos en la población caucásica después del consumo de alimentos ricos en isoflavonas, como la soja, se estima alrededor del 80 al 90%, como mínimo, para los productores de ODMA, y aproximadamente un 30% de EP, y estos porcentajes parecen ser estables en el tiempo (Frankenfeld et al., 2005, 2014; Wu et al., 2007; Li et al., 2020b). De hecho, algunos resultados parecen indicar que sería poco probable una conversión de los individuos ENP en EP (Védrine et al., 2006; Cortés-Martín et al., 2020a). Sin embargo, hay que tener en cuenta que estas proporciones pueden variar en función de la localización geográfica de los individuos, encontrándose que, en poblaciones asiáticas, la producción de equol es mayor, llegando a representar un 50-60 % de la población, mientras que el porcentaje de productores de ODMA disminuye ligeramente (Song et al., 2006; Atkinson et al., 2008; Liu et al., 2010; Yoshikata et al., 2019). Sin embargo, no se han encontrado asociaciones claras de los metabotipos de las isoflavonas con patrones dietéticos y características demográficas de la población incluyendo raza, nivel de educación y edad (Frankenfeld et al., 2005, 2017).

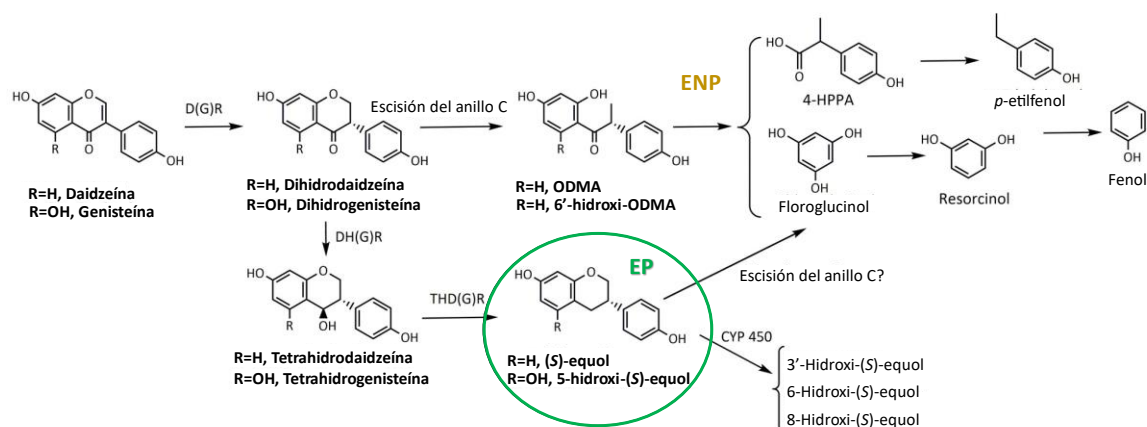


Figura 5. Perfil metabólico en los metabotipos de equol. EP, productores de equol; ENP, no productores de equol; D(G)R, dihidrodaidzeína/genisteína reductasa; THD(G)R, tetrahidrodaidzeína/genisteína reductasa; CYP, citocromo P450; 4HPPA, ácido 4-hidroxifenil propiónico; ODMA, O-desmetilangolensina. Adaptada de Cortés-Martín et al., 2020a.

Como se ha comentado anteriormente, las posibles combinaciones de metabotipos de equol y ODMA y su distribución en la población no están del todo claras. Hay que considerar que algunos de estos metabolitos como es el caso de la ODMA, siguen metabolizándose originando compuestos comunes al metabolismo de otros muchos (poli)fenoles, como ácido hidroxifenilpropiónico y floroglucinol, lo que podría influir en la distribución del metabotipo de ODMA de los individuos. En cuanto al equol, no se han detectado metabolitos más simples provenientes de él, sin embargo, puede ser hidroxilado por el CYP 450 (Cortés-Martín et al., 2020a).

4.2.1 Microorganismos intestinales modulados e implicados en el metabolismo de isoflavonas

Hay microorganismos capaces de convertir la dihidrodaidzeína (DHD) en equol pero que no pueden transformar la daidzeína nativa, mientras otros pueden convertir la daidzeína en DHD, pero no podrían producir equol. Por ejemplo, *Lactobacillus* sp. Niu-

O16 es una bacteria productora de DHD a partir de la daidzeína, y *Eggerthella* sp. Julong 732 puede utilizar esta DHD para producir equol (Wang et al., 2007). Actualmente, se conocen varias cepas bacterianas provenientes de animales y humanos que son capaces de producir equol. Además, algunos microorganismos productores de equol pueden metabolizar la genisteína produciendo un compuesto muy similar al equol llamado 5-hidroxi-equol, que además cuenta con un efecto antioxidante mayor que su precursor (Arora et al., 1998; Matthies et al., 2009, 2012; Abiru et al., 2013; Mayo et al., 2019). Ciertas cepas de BAL son también capaces de transformar agliconas de isoflavonas en sus metabolitos más bioactivos, como dihidrogenisteína (DHG), DHD, ODMA y 6-hidroxi-ODMA. Así, por ejemplo, *Lactococcus garviae* 20-92 es capaz de producir equol, mientras que *Slackia isoflavoniconvertens* DSM 22006 produce equol, 5-hidroxi-equol, DHG y DHD (Langa et al., 2023).

Como se ha comentado, la capacidad de producir equol no solo se restringe a las BAL como *Lactobacillus intestinalis* JCM 7548, *Lactobacillus paracasei* CS2, *Lactobacillus sakei* CS3, *Lactococcus garvieae* 20-90, y *Pediococcus pentosaceus* CS1 ni a bifidobacterias como *Bifidobacterium breve* ATCC 15700T y *Bifidobacterium longum* BB536, (Clavel & Mapesa, 2013; Mayo et al., 2019). De hecho, varias de ellas pertenecen a la familia *Eggerthellaceae*. Entre esas especies bacterianas se encuentran *Enterorhabdus mucosicola*, *Slackia equolifaciens*, *Slackia isoflavoniconvertens*, *Adlercreutzia equolifaciens*, y *Adlercreutzia equolifaciens* subsp. *celatus*. *Bacteroides ovatus*, *Streptococcus intermedius*, *Fingoldia magna* y *Limosilactobacillus mucosae* también se han relacionado con la producción de equol (Ueno & Uchiyama, 2002;

Decroos et al., 2005; Maruo et al., 2008; Minamida et al., 2008; Matthies et al., 2009; Jin et al., 2010; Vázquez et al., 2020).

La funcionalidad y composición de la microbiota intestinal de los metabotipos de producción de equol se ha investigado, no encontrándose diferencias significativas en la riqueza bacteriana entre los EP y ENP (Zheng et al., 2019). *Desulfovibrio*, *Collinsella*, *Eubacterium*, *Prevotella*, *Megamonas* y *Allistipes* fueron más abundantes en EP, al igual que especies productoras de equol como *Adlercreutzia equolifaciens* y *Bifidobacterium bifidum*. En contraposición, ENP presentó un enriquecimiento de los géneros *Eggerthella*, *Ruminococcus* y *Bacteroides*, además de la familia *Lachnospiraceae*, y algunos de estos microorganismos mostraron una asociación con los lípidos sanguíneos (Zheng et al., 2019). Por otro lado, parece que la capacidad de los individuos de albergar bacterias productoras de ODMA no está asociada con la presencia de bacterias productoras de equol (Cortés-Martín et al., 2020a).

Se ha descrito que no todas las cepas dentro del mismo género identificado como capaz de producir equol, serían capaces de producirlo (Yoshikata et al., 2019). En este sentido, un estudio reciente identificó taxones productores de equol, tanto en EP como en ENP, y no encontró correlación entre la abundancia de estos taxones y el metabotipo de equol. Además, el análisis no fue capaz de identificar los genes involucrados en la producción de equol, concluyendo que el análisis taxonómico de datos metagenómicos podría no ser adecuado para la detección y cuantificación de microorganismos productores de equol. Sin embargo, el análisis funcional de los datos podría ser una alternativa para identificar estas diferencias (Vázquez et al., 2023).

4.2.2 Metabolitos derivados del metabolismo de isoflavonas y su efecto en la salud

Los metabolitos derivados del metabolismo de la daidzeína (DHD, equol, *cis*-4-OH-equol, 5-hidroxi-equol y ODMA) son los más estudiados en las isoflavonas, junto con sus conjugados de fase-II. Otros metabolitos menos estudiados son los derivados de la genisteína y gliciteína, como dihidrogenisteína, 6'-hidroxi-ODMA, dihidrogliciteína, 5'-O-methyl ODMA, y 6-O-methyl equol (Heinonen et al., 2003; Murota et al., 2018).

Los individuos productores de los metabolitos microbianos de las isoflavonas, como equol, parecen tener mejor perfil cardiovascular y estatus neurocognitivo que los no productores según se ha observado en varios estudios transversales en poblaciones asiáticas (Liu et al., 2014; Ahuja et al., 2017; Sekikawa et al., 2020). De hecho, se ha descrito una menor prevalencia de dislipidemia en los individuos EP en comparación de los ENP (Zheng et al., 2019). Estas investigaciones parecen indicar que el equol podría ofrecer una mayor protección cardiovascular que las isoflavonas de soja. Los beneficios para la salud superiores de equol, observados en diversos estudios, en comparación con las isoflavonas nativas podrían deberse, al menos en parte, a su mayor afinidad por el receptor β -estrogénico (Ding et al., 2020). Estudios en cultivos celulares, animales y humanos han demostrado que el equol tiene propiedades antiinflamatorias, vasodilatadoras y antioxidantes, además de mejorar la aterosclerosis y rigidez arterial (Zhang et al., 2021a). Además, se ha sugerido que el equol puede contribuir a reducir la presión arterial, disminuir diversos marcadores de riesgo cardiovascular y mejorar la función de los vasos sanguíneos (Usui et al., 2013; Sekikawa et al., 2019; Mayo et al., 2019).

Por otro lado, el equol también se ha asociado con una mejor salud ósea al promover la formación de hueso e inhibir su resorción. Esto podría ser particularmente beneficioso en la prevención de la osteoporosis y trastornos óseos relacionados. Las isoflavonas como la daidzeína y la genisteína, junto con sus metabolitos, como equol, participarían en la homeostasis ósea movilizando el calcio del hueso a la circulación sanguínea. De esta forma, estos compuestos estimulan la formación ósea aumentando la densidad mineral del hueso (Mayo et al., 2019; Harahap & Suliburska, 2021). También, hay investigaciones que indican que este metabolito podría tener propiedades anticancerígenas inhibiendo el crecimiento de ciertas células cancerosas, como las de cáncer de mama y próstata (Mayo et al., 2019). Se ha relacionado la no producción o los niveles bajos de equol con lesiones cancerosas en la mucosa colónica, sugiriendo una potencial protección en los EP (Polimeno et al., 2020). Recientemente, se ha observado que equol está inversamente asociado con varias patologías vasculares que contribuyen al deterioro cognitivo y la demencia, como la rigidez arterial y lesiones de la sustancia blanca cerebral, siendo más probable que el equol pueda atravesar la barrera hematoencefálica que las isoflavonas precursoras (Sekikawa et al., 2022).

Por el contrario, también se ha relacionado la producción de equol en hombres adultos como una característica negativa, asociándose con un aumento de peso e incapacidad para regular la presión sanguínea, a diferencia de lo observado en los sujetos no productores que consumieron isoflavonas (Bosland et al., 2021). Sin embargo, hay que tener en cuenta que la mayoría de los voluntarios de este estudio se encontraban bajo tratamiento farmacológico, factor que afecta a la microbiota intestinal, y, por tanto, a la producción de equol, algo que como se comentó

anteriormente, también se ha identificado que influye en los efectos ejercidos por las UROs en pacientes polimedicados con síndrome metabólico (Cortés-Martín et al., 2021).

Los ensayos clínicos en mujeres en menopausia que fueron suplementadas con equol han demostrado efectos positivos sobre la rigidez arterial y los principales síntomas de la menopausia (Aso et al., 2012; Jenks et al., 2012; Yoshikata et al., 2018), y, además, un meta-análisis confirmó también la reducción de sofocos después del consumo de este metabolito (Daily et al., 2019). Recientemente, se ha establecido que, para las mujeres con contraindicaciones para recibir terapia hormonal, el equol es un posible agente terapéutico sustitutivo con nivel II de evidencia (The 2022 Hormone Therapy Position Statement of The North American Menopause Society” Advisory Panel, 2023).

Hay pocos estudios sobre el efecto del metabolito ODMA en la salud. Sin embargo, un estudio asoció la no producción de ODMA con la obesidad en mujeres en menopausia (Miller et al., 2017). Se sugiere que puede presentar efectos biológicos diferentes a la daidzeína, ya que su estructura es menos similar al 17β -estradiol que la de su precursor. Según estudios *in vitro*, el metabolito ODMA tendría efectos biológicos relacionados con el cáncer, alterando el crecimiento de células de ciertos tipos de cáncer de mama. Sin embargo, según diversos estudios, su efecto podría ser limitado debido a las bajas concentraciones circulantes en humanos y debido a que mayoritariamente se encuentra en forma de glucurónido, presentando un efecto mucho más débil que la forma libre (Frankenfeld, 2011). También, algunos estudios han asociado la obesidad con ser ENP y no producir ODMA, y una asociación inversa entre la producción de equol y esta condición (Miller et al., 2017; Reverri et al., 2017; Takahashi et al., 2021).

4.3 Metabolismo del resveratrol

Al igual que otros xenobióticos, una vez que el RSV se absorbe en las células intestinales, es conjugado por las enzimas de fase-II produciendo metabolitos más hidrófilos, que pueden ser excretados más fácilmente. Específicamente, el RSV es conjugado rápidamente en diferentes posiciones de la molécula por enzimas SULTs y UGTs (Springer & Moco, 2019), para dar lugar a los correspondientes derivados sulfatos, glucurónidos y sulfoglucurónidos. Después de ser absorbidos y conjugados en los enterocitos del intestino delgado, los sulfatos y glucurónidos de RSV siguen dos posibles caminos: i) pasan al lumen intestinal transportados a través de la membrana apical; o ii) entran al torrente sanguíneo al pasar a través de la membrana basolateral. El enterocito contiene transportadores ABC en ambas partes, apical y distal, fundamentales en la absorción y respuesta de estos compuestos (Rouleau et al., 2017). Los microorganismos intestinales pueden metabolizar aún más al RSV y sus metabolitos en el colon. Aquí, se puede generar RSV libre de nuevo por la hidrólisis de sus metabolitos, y, además, pueden suceder reacciones de reducción adicionales. El DHRSV es el metabolito microbiano de RSV más conocido y producido en mayor abundancia (Springer & Moco, 2019).

El DHRSV es producido al reducir el doble enlace que se encuentra entre los anillos fenólicos de RSV. Varios estudios han detectado concentraciones altas de DHRSV y sus metabolitos en fluidos y tejidos humanos y animales, después del consumo de RSV (Walle et al., 2004; Wang et al., 2005; Jung et al., 2009; Azorín-Ortuño et al., 2011; Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b). El DHRSV producido por este metabolismo bacteriano puede

ser luego absorbido, conjugado y excretado en la orina al igual que su precursor en forma de glucurónidos, sulfatos y/o sulfoglucurónidos (Springer & Moco, 2019).

Como se comentó anteriormente, dos metabolitos microbianos adicionales, DHST y LUNU, se identificaron en orina, además del DHRSV, como catabolitos intestinales del metabolismo de RSV en humanos (Bode et al., 2013). Para dar lugar a estos metabolitos, la deshidroxilación de RSV ocurre en el anillo resorcinol, es decir, se elimina 1 de los 2 grupos hidroxilo en posición *meta* (**Figura 6**). Bode et al. (2013) indicaron que la LUNU puede formarse de 2 maneras diferentes: 1) a través de la deshidroxilación de DHRSV intermedio o 2) a través de la reducción del intermedio DHST. Ambas rutas pueden ser realizadas por microorganismos individuales y/o dependerían de la presencia de una diversidad de bacterias.

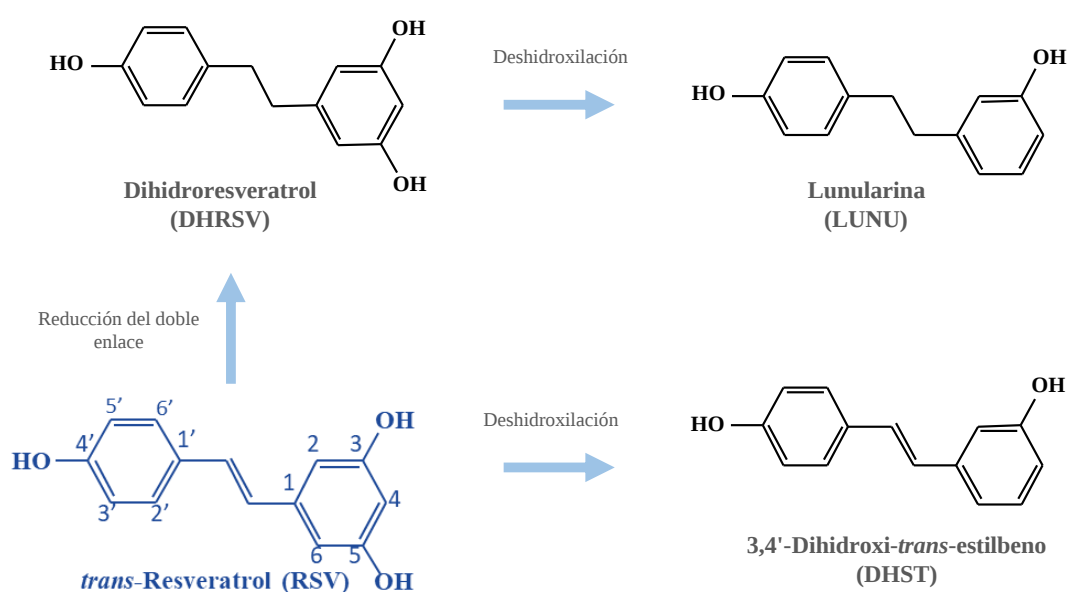


Figura 6. Metabolismo microbiano del resveratrol

En algunos humanos, el principal producto microbiano de RSV descrito puede ser DHRSV (Walle et al., 2004; Wang et al., 2005), LUNU o una combinación de ambos (Bode

et al., 2013). Los metabolitos conjugados pueden ser hidrolizados en el intestino delgado antes de pasar a la circulación portal, y ser transportados nuevamente al hígado. Esta circulación enterohepática puede ser la causante de la presencia abundante de metabolitos de RSV en la circulación sanguínea (Walle et al., 2004; Springer & Moco, 2019; Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b). *Sin embargo, hasta la fecha, se desconoce si estos derivados de RSV pueden sufrir transformaciones adicionales por la microbiota intestinal y dar lugar a otros metabolitos microbianos, no descritos aún. Además, tampoco se sabe si el metabolismo de RSV da lugar a un perfil de metabolitos diferencial y/o diferentes metabotipos en la población, como en el caso de los metabotipos de UROs y equol, lo que podría suponer un diferente efecto de RSV tras su consumo, en función de la microbiota intestinal de cada persona.*

4.3.1 Microorganismos intestinales modulados e implicados en el metabolismo de resveratrol

Un estudio que ensayó la capacidad para metabolizar RSV de una variedad de bacterias intestinales en cultivo puro, encontró que, de las bacterias utilizadas, dos bacterias pertenecientes a la familia *Eggerthellaceae*, *Slackia equolifaciens* y *Adlercreutzia equolifaciens*, eran capaces de reducir RSV hasta DHRSV (Bode et al., 2013). En otro estudio se encontró que otro miembro de la familia *Eggerthellaceae*, *Eggerthella lenta* ATCC 43055, también fue identificada como productora de DHRSV a partir de RSV (Jung et al., 2009), sugiriendo que los géneros bacterianos que pertenecen a esta familia estarían relacionados con la reducción de RSV a DHRSV. También se ha demostrado que *Bacteroides uniformis* ATCC 8492 es capaz de producir DHRSV (Jung et al., 2009), y se ha relacionado una mayor abundancia de Actinobacteria,

Verrucomicrobia y Bacteroides, además de una menor abundancia de Firmicutes, con la producción de LUNU (Bode et al., 2013).

Un estudio reciente describió *Adlercreutzia rubneri* como una nueva especie bacteriana aislada en heces humanas capaz de producir DHRSV a partir de RSV (Stoll et al., 2021). Por otro lado, el crecimiento de *Lactobacillus reuteri* y *Lactobacillus intestinalis* fue promovido por RSV 3-O-sulfato, algo que no se observó con RSV libre (Zhang et al., 2021b). Un estudio en roedores libres de gérmenes demostró que la suplementación con probióticos aumentaba significativamente los niveles de conjugados de RSV y DHRSV. En comparación con los controles, la ingesta a largo plazo de RSV aumentaba significativamente tanto la abundancia del género *Lactobacillus* como la relación Firmicutes/Bacteroides en ratones con colitis (Yao et al., 2022).

El RSV parece ser efectivo contra bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas, teniendo una amplia gama de actividad antimicrobiana (Paulo et al., 2010; Zhang et al., 2021c). Por tanto, por medio de su acción antimicrobiana el consumo de RSV puede modular la composición de la ecología microbiana intestinal. Por ejemplo, en un estudio donde los ratones fueron tratados con RSV, se observó que los que consumieron este (poli)fenol carecían de las bacterias intestinales *Parabacteroides jonsonii*, *Alistipes putredinis* y *Bacteroides vulgatus*, en comparación con los ratones controles que no lo consumieron (Dao et al., 2011). También, se ha descrito en ratas suplementadas con una baja dosis de RSV que los niveles de *Escherichia coli* y Enterobacterias disminuyeron mientras que los niveles de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* aumentaron (Larrosa et al., 2009). La inhibición del crecimiento bacteriano suprimiendo la expresión del gen FtsZ (*filamenting temperature-sensitive mutant Z*) y la

formación del anillo Z, esenciales para la división celular, son mecanismos de la actividad antimicrobiana de RSV contra *E. coli* (Hwang et al., 2015; Springer & Moco, 2019).

Se ha sugerido que la modulación microbiana intestinal después de la suplementación con RSV puede ser un mecanismo de acción esencial en la actividad biológica de este compuesto (Sung et al., 2017). El RSV fue capaz de producir cambios en el microbioma intestinal de ratones obesos, como un aumento en la abundancia relativa de *Bacteroides* y *Parabacteroides*, y una disminución en la abundancia de *Turicibacteraceae*, *Moryella*, *Lachnospiraceae* y *Akkermansia*. Además, los trasplantes de microbiota fecal de ratones sanos alimentados con RSV, mejoraron la homeostasis de la glucosa en los ratones obesos (Sung et al., 2017). En otro estudio en roedores alimentados con una dieta alta en lípidos, el consumo de RSV también produjo una disminución de la abundancia de *Lachnospiraceae*, además de *Desulfovibrio*, y un aumento de *Blautia* (Wang et al., 2020).

Por otro lado, se ha observado que el consumo de RSV aumenta la proporción de Bacteroidetes/Firmicutes en roedores (Ley et al., 2005; Etxeberria et al., 2015; Sung et al., 2017). En hombres con sobrepeso también produjo un aumento en los niveles de Bacteroidetes, asociados con la oxidación postprandial de grasas (Most et al., 2017). Otros estudios en animales y humanos abalan que la suplementación con RSV es capaz de aumentar los niveles de Bacteroidetes, además de reducir la producción del N-óxido de trimetilamina (TMAO) (Chen et al., 2016a; Bird et al., 2017), el cual se ha asociado con enfermedad cardiometabólica (Koeth et al., 2013).

4.3.2 Metabolitos derivados del metabolismo del resveratrol y su efecto en la salud

Como se ha comentado, se han identificado varios metabolitos de RSV en animales y humanos en diferentes reservorios (plasma, heces, tejidos, orina, etc.), incluyendo sus metabolitos microbianos y conjugados de fase-II. Entre estos metabolitos se encuentran DHRSV, LUNU, y varios derivados sulfatos, glucurónidos y sulfoglucurónidos de RSV, DHRSV, y/o LUNU (Walle et al., 2004; Wang et al., 2005; Azorín-Ortuño et al., 2011; Andrés-Lacueva et al., 2012; Bode et al., 2013; Liu et al., 2020; Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b). Estos conjugados se distribuyen principalmente en tejidos sistémicos y el intestino delgado, y cuando pasan el intestino grueso, pueden ser desconjugados nuevamente a sus formas libres por acción de la microbiota intestinal (Azorín-Ortuño et al., 2011; Li et al., 2022).

En un modelo animal de colitis, RSV disminuyó la pérdida de peso corporal, y los marcadores de inflamación sistémica, además de proteger la arquitectura de la mucosa colónica (Larrosa et al., 2009). Esta bioactividad intestinal de RSV también puede ser mediada a través de las acciones de sus metabolitos. Por ejemplo, en otro estudio RSV 3-O-sulfato aumentó significativamente la expresión de ARN mensajero (ARNm) de proteínas relacionadas con protección de la barrera intestinal en ratones (Zhang et al., 2021b).

Los conjugados de DHRSV son producidos en mayor cantidad que los de RSV (Walle, 2011; Azorín-Ortuño et al., 2011). Además, también se ha detectado una alta abundancia de LUNU y sus conjugados en los tejidos de roedores (Li et al., 2022) y humanos (Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b). Por ello, todos estos metabolitos podrían tener un papel importante en los efectos biológicos de RSV, si consideramos que, en

tejidos sistémicos, se encuentran en mayores niveles que su precursor (Azorín-Ortuño et al., 2011; Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b). Los resultados en algunos estudios indican que DHRSV y LUNU pueden tener efectos sinérgicos beneficiosos y son importantes mediadores de los efectos protectores de RSV en enfermedades de riñón y de colon. En estos tejidos, DHRSV y LUNU pueden contribuir significativamente a las propiedades quimiopreventivas tras administración de RSV, ya que en estudios *in vitro* que utilizaron ambos compuestos por separado y combinados, tuvieron efectos antiproliferativos y antiinflamatorios más potentes que RSV (Li et al., 2022).

Un estudio no encontró efectos de RSV y DHRSV en el peso y los niveles de insulina o glucosa en roedores, mientras que LUNU produjo una reducción ligera del aumento de estos parámetros y la ingesta de alimento. Sin embargo, no se observó que RSV, LUNU o DHRSV actuaran como simuladores del efecto de la restricción calórica (Günther et al., 2020). Recientemente, un estudio de estructura-actividad comparó la actividad anticancerígena de una serie de metabolitos microbianos derivados de RSV y otros análogos estructurales, a dosis fisiológicamente relevantes, en células cancerosas y no tumorales de colon. El efecto antiproliferativo observado fue mediado por un bloqueo en la fase S del ciclo celular, ejercido por todos los compuestos, y/o en la fase G₂/M, por alguno de ellos. Además, hubo un ligero, pero significativo, aumento en la apoptosis ejercido por la mayoría de los compuestos. Este estudio concluyó que el metabolismo de la microbiota intestinal de estilbenos, al modificar la estructura de los metabolitos de RSV, influye críticamente en la actividad antiproliferativa observada, disminuyendo esta con la reducción del doble enlace estireno de los estilbenos y con el número de grupos hidroxilo de los metabolitos, pues ambos aspectos influyen en dos variables relevantes

sobre la actividad, el tamaño de la molécula y su reactividad e ionización de los grupos hidroxilos (González-Sarrías et al., 2022).

Estos antecedentes ponen de manifiesto la necesidad de realizar más estudios sobre los efectos en la salud de los metabolitos microbianos de RSV, como DHRSV, LUNU y sus conjugados, que se encuentran en circulación y son capaces de llegar a los tejidos. Por ello, la distribución en tejidos sistémicos de RSV y sus metabolitos de fase-II, así como de los derivados microbianos, es un aspecto clave a investigar a la hora de establecer qué metabolito(s) son los responsables de los efectos biológicos. *Por tanto, además de conocer si existe un metabolismo diferencial (cuali-cuantitativo) de RSV según cada persona, también surge la necesidad de explorar otros posibles mecanismos de transporte que también pudieran vehiculizar y proteger al RSV del metabolismo de fase-II y microbiano para preservar su bioactividad.*

Finalmente, también hay que resaltar que se ha descrito la microbiota asociada y la distribución de los metabotipos relacionados con el metabolismo de (poli)fenoles, identificados hasta la fecha, (UMA, UMB, UM0; y EP y ENP), en poblaciones de diferentes localizaciones e intervalos de edad (Frankenfeld, 2017; Cortés-Martín et al., 2018, 2020a; Mayo et al., 2019; Romo-Vaquero et al., 2019; Zheng et al., 2019). *Sin embargo, estos metabotipos no se manifiestan de forma aislada, sino que cada individuo tendrá una combinación de metabotipos tras el consumo de los correspondientes (poli)fenoles (elagitaninos-ácido elágico e isoflavonas). Por ello, se desconoce qué combinaciones de estos metabotipos (y quizá de otros aún por describir) coexisten en cada individuo, qué distribución presentan en la población y cómo es el microbioma asociado representativo de cada posible agrupación de metabotipos.*

5. Personalización de metabotipos y mejora de la biodisponibilidad de (poli)fenoles y de sus metabolitos microbianos

En este apartado se presentan diferentes aproximaciones que pretenden incrementar los efectos beneficiosos de los (poli)fenoles y sus metabolitos microbianos mediante el incremento de su biodisponibilidad y la personalización de los metabotipos.

Como se ha explicado anteriormente, una limitación importante de los (poli)fenoles es su baja biodisponibilidad, y su casi nula capacidad de llegar intactos a los tejidos diana para poder ejercer su efecto. En este sentido, estrategias que sean capaces de protegerlos del metabolismo y transportarlos intactos a los tejidos, son de gran interés. La encapsulación de (poli)fenoles en vesículas extracelulares, incluidos exosomas, es una estrategia que se podría utilizar para este objetivo. Tampoco se sabe si tras el consumo de (poli)fenoles, el propio organismo sería capaz de incorporarlos de forma natural en este tipo de vesículas, junto a sus metabolitos microbianos y conjugados, para ser transportados en la circulación por el organismo.

Por otro lado, como se ha dicho, la variabilidad interindividual en la microbiota intestinal influye en el perfil metabólico en los individuos tras el consumo de ciertos (poli)fenoles, como los elagitaninos, y, por ende, en los posibles efectos beneficiosos que determinados metabolitos microbianos inducen en el organismo. La posible personalización de metabotipos, mediante la administración de bacterias asociadas a ellos, como posibles probióticos, podría ser una estrategia muy útil sobre todo en individuos no productores de ciertos metabolitos de (poli)fenoles. Además, la

caracterización de los microorganismos específicos implicados en la producción de los diferentes metabolitos *in vitro*, también es de gran interés biotecnológico para el posible desarrollo de nutraceuticos que incluyan estas moléculas.

A continuación, se describen ambas estrategias para implementar los efectos beneficiosos de los (poli)fenoles y sus metabolitos microbianos. Primero se abordan las vesículas extracelulares y exosomas, y después, los probióticos, prebióticos, postbióticos y simbióticos.

5.1 Transporte: vesículas extracelulares y exosomas

5.1.1 Vesículas extracelulares

Las vesículas extracelulares (EVs) son nanoestructuras biomoleculares con bicapa lipídica que transportan proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y azúcares, y que son liberadas por la mayoría de las células procariotas y eucariotas en el medio extracelular como medio de comunicación intercelular, transfiriendo moléculas desde las células donantes a las células diana (Kalluri & LeBleu, 2020; Soekmadji et al., 2020). Su potencial papel en la enfermedad u homeostasis de los tejidos son objeto de estudio en la actualidad. La clasificación de EVs incluye dos amplias categorías: los ectosomas y los exosomas (EXOs). A grandes rasgos, los ectosomas incluyen microvesículas, micropartículas y vesículas grandes en el rango de tamaño de 50 nm a 1 µm de diámetro y se desprenden de la superficie de la membrana plasmática por exocitosis. En cambio, los EXOs tienen un origen endosómico y su tamaño promedio es de 100 nm, con un rango entre 40 a 160 nm (Kalluri & LeBleu, 2020). Cuando la membrana plasmática de una célula se pliega hacia adentro (endocitosis) se forman estructuras llamadas cuerpos

multivesiculares. Estos cuerpos pueden conectarse con otras vesículas y orgánulos dentro de la célula, lo que contribuye a la variedad de componentes presentes en los EXOs (**Figura 7**) (Kalluri & LeBleu, 2020).

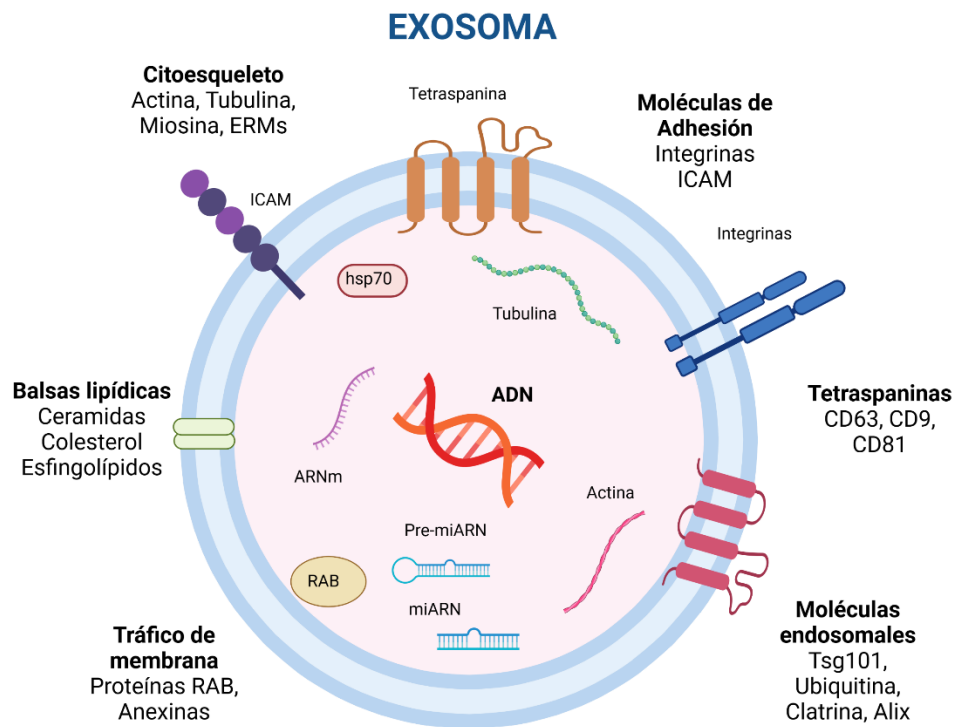


Figura 7. Exosomas y sus componentes. Alix, Proteína de interacción de muerte celular programada 6; ERM, Ezrina, Radixina, Moesina; hdp70, proteína de choque térmico 70; ICAM, molécula de adhesión intercelular; mRNA, ARN mensajero; miRNA, microRNA; Tsg101, proteína del gen de susceptibilidad tumoral 101. Adaptada de Hou et al., 2019.

Las EVs se distribuyen ampliamente en los fluidos biológicos y son liberadas por todos los tipos celulares del organismo, participando en la regulación y comunicación intercelular transfiriendo su carga a células de diversos tejidos diana, de forma local o viajando a otras localizaciones sistémicas dentro del organismo (Keller et al., 2006; Kalluri & LeBleu, 2020; O'Grady et al., 2022). Esto ha despertado gran interés en el

análisis de biofluidos, para buscar estas vesículas y utilizarlas como herramienta para el diagnóstico y evolución de diversas condiciones patológicas (Santiago-Dieppa et al., 2014; Vallejo et al., 2019). Además, se han observado varios roles de las EVs en procesos fisiológicos y patológicos, poniendo de manifiesto su utilidad como agentes terapéuticos y como biomarcadores clínicos (Yáñez-Mó et al., 2015).

No obstante, aún no se conoce completamente cómo se originan las EVs. Las rutas identificadas hasta ahora incluyen la formación de vesículas en la membrana plasmática, las vías endosómicas canónicas, así como aquellas que surgen durante los procesos celulares relacionados con la apoptosis y la senescencia (Soekmadji et al., 2020). Las EVs, incluidos los EXOs, pueden contener diferentes componentes celulares, dependiendo del tipo de célula que las origina. Todavía no se comprende completamente el objetivo fisiológico exacto de los EXOs, pero se ha visto que además de su papel en la señalización celular, también podrían ayudar a mantener la salud y equilibrio celular, al eliminar materiales innecesarios o encontrados en exceso (Kalluri & LeBleu, 2020). Sin embargo, se necesita más investigación para entender completamente sus funciones, mecanismos y posibles usos (Kalluri & LeBleu, 2020).

Aún existe la duda de si los EXOs son reminiscencias de partículas primordiales tempranas que estuvieron implicadas en el surgimiento de la primera protocélula, y queda por establecer, si en un entorno adecuado, pueden participar en reacciones bioquímicas autónomas y eventos de señalización (Budin et al., 2012; Joyce & Szostak, 2018). También, se ha planteado la posibilidad de que los EXOs hayan sido partículas predecesoras a los organismos unicelulares debido a su similitud con retrovirus (Nolte-'t Hoen et al., 2016).

A medida que aprendemos más sobre la diversidad y funciones de las EVs, se hace más evidente la importancia de caracterizarlas con precisión. La clasificación de las EVs en la actualidad puede ser según su origen, tamaño y/o densidad, mecanismos de liberación y marcadores. Además, un aspecto importante, y que aún está en debate, es la estandarización de las metodologías para aislar y caracterizar las EVs (Soekmadji et al., 2020).

5.1.2 Exosomas

No hay un claro consenso del término preciso para definir a estas vesículas ya que en diversos estudios los términos EXOs, EVs, microvesículas, etc., se suelen usar indistintamente. Es común que, al detectar los correspondientes marcadores de membrana, las EVs se denominen EXOs utilizando las definiciones de la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares (ISEV) (Witwer & Théry, 2019). Se ha descrito que los EXOs son capaces de atravesar barreras físicas en el organismo, incluyendo la barrera hematoencefálica y la placenta (Colombo et al., 2014), por lo que se han propuesto como nanoestructuras para vehiculizar diferentes moléculas con posibles efectos clínicos, como ácidos nucleicos, fármacos y compuestos bioactivos naturales (Sun et al., 2010; Mehryab et al., 2020; Zhao et al., 2020; Song et al., 2021). Además, se ha visto que son capaces de modular la respuesta inmune, la reparación de tejidos, además de estar implicados en el mantenimiento y tráfico celular en condiciones patológicas y normales. Algunas de las disfunciones en las que podrían estar implicados son inflamación, cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegeneración (Howitt & Hill, 2016; Zamani et al., 2019; Gurung et al., 2021; Soltész et al., 2021). Estudios en

roedores han demostrado que dosis altas de EXOs pueden tener efectos significativos en el comportamiento celular, incluyendo la modulación de la progresión del cáncer, la inducción de neoplasia y la regeneración de tejido (Skog et al., 2008; Melo et al., 2014; Zhou et al., 2014; Fong et al., 2015; Liu et al., 2016; Mao et al., 2018).

La potencial distribución de moléculas bioactivas en diferentes tejidos del organismo utilizando EXOs parece ser posible debido a que estas vesículas tienen la capacidad de proteger su carga de la digestión gastrointestinal, el metabolismo y la degradación (Aqil et al., 2017; Saint-Pol et al., 2020; López de las Hazas et al., 2021).

Los alimentos también pueden ser fuente de EXOs, y un creciente número de estudios han mostrado que este tipo de vesículas podrían ser importantes en las actividades biológicas de algunos alimentos (Tomé-Carneiro et al., 2018; Del Pozo-Acebo et al., 2021). Uno de estos alimentos es la leche, cuyo uso como fuente de EXOs presenta varias ventajas, como ser biológicamente compatible entre diferentes especies de mamíferos y tener un efecto tóxico potencial bajo. Además, los EXOs provenientes de la leche pueden usarse para vehiculizar macromoléculas lipofílicas e hidrofílicas, y son capaces de llegar a varios órganos, incluido el cerebro, cruzando la barrera hematoencefálica, además de que su superficie puede ser modificada para su distribución específica a diferentes tejidos (Somiya et al., 2018; Manca et al., 2018). Además, la leche es un alimento que tiene una alta escalabilidad para la producción de EXOs. Por todo ello, los EXOs de la leche parecen ser una buena opción para la encapsulación de diferentes moléculas bioactivas (Adriano et al., 2021; Feng et al., 2021). Este tipo de EXOs ya han sido usados para encapsular diferentes compuestos naturales como (poli)fenoles, fármacos y diversos ARNs como microARNs y siARNs (Tian

et al., 2014; Aqil et al., 2017; Adriano et al., 2021; Del Pozo-Acebo et al., 2021; Kandimalla et al., 2021; Song et al., 2021).

5.1.3 La biogénesis y heterogeneidad de los exosomas

Los EXOs se forman a través de un proceso que implica la invaginación de la membrana plasmática y la formación de cuerpos multivesiculares intracelulares (CMV) que contienen vesículas intraluminales (ILV). Estas ILV son finalmente secretadas como EXOs con un tamaño de aproximadamente 40 a 160 nm de diámetro mediante la fusión de los CMV con la membrana plasmática y la exocitosis (Kalluri, 2016; Hessvik et al., 2018; van Niel et al., 2018; Willms et al., 2018; Mathieu et al., 2019; McAndrews et al., 2019). El CMV puede fusionarse con la membrana plasmática liberando las ILV contenidas como EXOs o ser degradado al fusionarse con lisosomas o autofagosomas (**Figura 8**) (Kahlert et al., 2013; van Niel et al., 2018). Proteínas y lípidos específicos, incluidas proteínas GTPasa, Rab, Sytenin-1, TSG101, ALIX, syndecan-1, proteínas ESCRT, fosfolípidos, tetraspaninas, ceramidas, esfingomielinasas y proteínas complejas SNARE, están involucradas en la biogénesis de los EXOs, aunque la comprensión completa de este proceso requiere más investigación, especialmente en condiciones *in vivo*, debido a la intersección con otras rutas moleculares (Ciardiello et al., 2016; Bebelman et al., 2018; Mathieu et al., 2019). La variación en los tipos celulares, las condiciones de cultivo y la salud genómica de las células también pueden influir en los reguladores clave de la biogénesis de los EXOs (Mathieu et al., 2019).

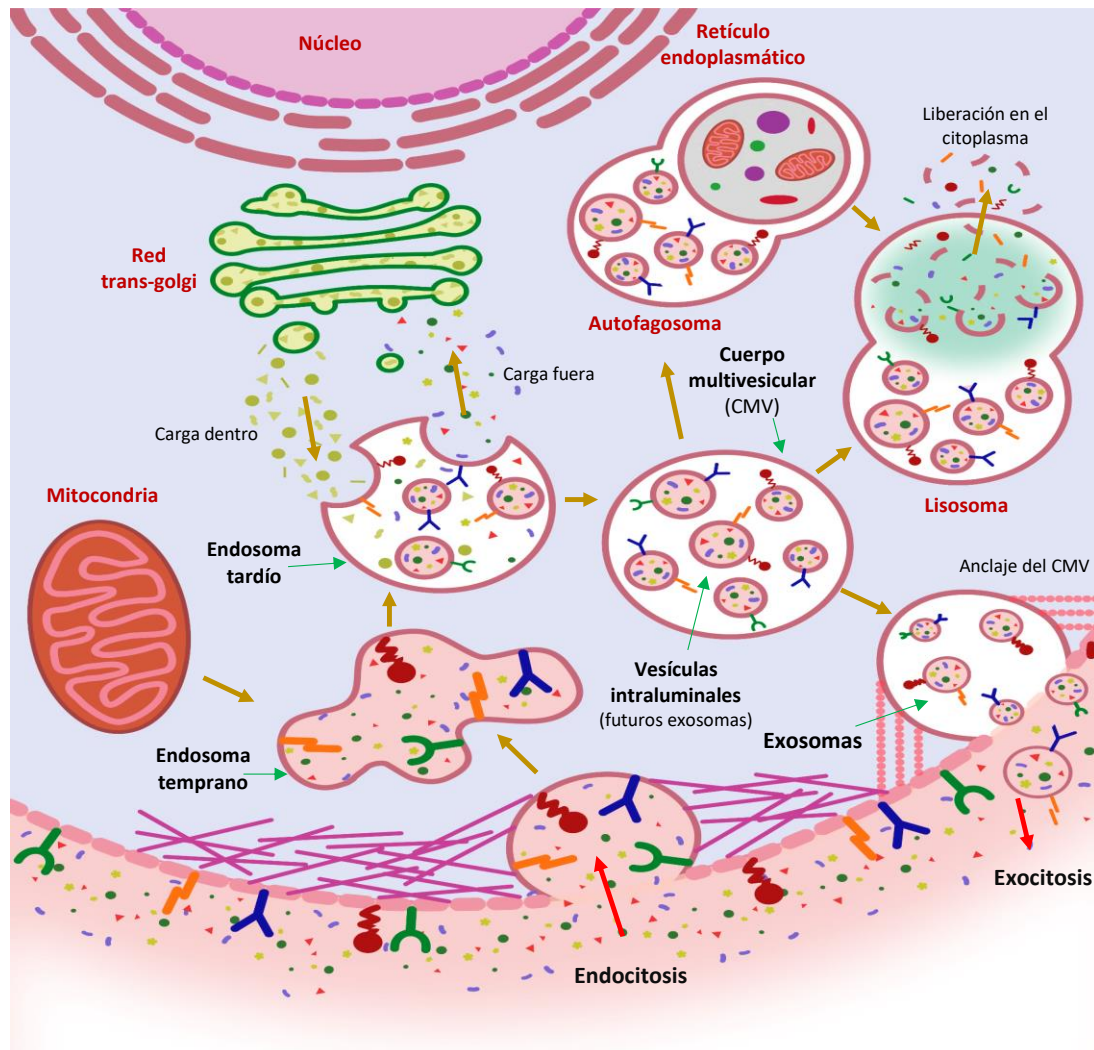


Figura 8. Biogénesis de exosomas. Adaptada de Kalluri & LeBleu, 2020

El tamaño, contenido, origen celular e impacto funcional en las células receptoras son factores que reflejan la heterogeneidad de los EXOs. Una invaginación desigual de la membrana podría provocar una desigualdad en el tamaño de estas partículas, además de que esto resulta en un contenido distinto de sólidos y líquidos, o debido a la utilización de métodos de aislamiento que incluyen otro tipo de EVs con diferente tamaño. Por tanto, el contenido de EXOs puede ser heterogéneo debido a esta diferencia en los tamaños de las partículas producidas debido a la utilización de

diferentes métodos de aislamiento (Ciardiello et al., 2016; Bebelman et al., 2018; Mathieu et al., 2019). Otros factores que influyen en esta heterogeneidad en el contenido de los EXOs, son la biología y microambiente inherente de los diferentes tipos de células, además de también afectar en sus marcadores biológicos. Los EXOs pueden contener diferentes tipos de proteínas: de membrana, citosólicas, nucleares y de matriz celular, además de los otros tipos de moléculas que pueden encapsular (van Balkom et al., 2015; Keerthikumar et al., 2016; Lasda & Parker, 2016; Pathan et al., 2019). El estudio proteómico de las EVs ha revelado la heterogeneidad en los diversos marcadores, poniendo de manifiesto la importancia en el diseño experimental y la elección de las metodologías de purificación basadas en marcadores (Kowal et al., 2016).

5.1.4 Estandarización y aislamiento de vesículas extracelulares

La Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares de 2018 (MISEV2018) proporciona una clasificación adecuada para las EVs en entornos clínicos. Esta guía busca la estandarización de la investigación de EVs, abarcando la recolección, procesamiento de muestras, almacenamiento, separación y caracterización (Théry et al., 2018). Varios factores preanalíticos pueden afectar las EVs, como el tiempo de almacenamiento de la muestra, la temperatura de conservación y la centrifugación (Lacroix et al., 2012; Sparrow et al., 2012; Fendl et al., 2016; Vila-Liante et al., 2016; Wisgrill et al., 2016; Soekmadji et al., 2020).

Una vez que las EVs han sido liberados en la circulación sanguínea se hace muy difícil rastrear su biogénesis, por lo que no se pueden categorizar fácilmente sólo según la expresión de marcadores (Witwer et al., 2013). La mayoría de la investigación sobre EVs

se ha realizado en plasma, suero, orina, saliva y leche materna, pero se han aislado en más de 30 subtipos de biofluidos (Witwer et al., 2013; Yuana et al., 2015; Coumans et al., 2017). Otras investigaciones están utilizando otras fuentes de fluidos biológicos como el líquido cefalorraquídeo, el líquido ascítico, las efusiones pleurales, el semen, el líquido amniótico, las secreciones nasales, el lavado broncoalveolar, el líquido sinovial y la bilis (Witwer et al., 2013; Yuana et al., 2015; Coumans et al., 2017; Soekmadji et al., 2020).

Actualmente, se han logrado mejoras sustanciales en el desarrollo de métodos de aislamiento de EVs a partir de biofluidos (Théry et al., 2018). Además, investigaciones recientes han evaluado el espacio intersticial del tejido, incluidos el líquido intersticial y la matriz extracelular, como posibles reservorios de EVs (Witwer et al., 2013; Vella et al., 2017; Huang et al., 2020). El aislamiento de EVs directamente de tejidos requiere controles estrictos y una meticulosa estandarización de los métodos para evitar la contaminación celular causada, por ejemplo, por la ruptura celular (Witwer et al., 2013, Vella et al., 2017, Huang et al., 2020). Aunque los biofluidos son la fuente preferida de estudio de EVs debido a su accesibilidad y alta abundancia en ellos, las EVs derivadas de tejidos contienen información específica del tipo de célula donde se originaron, por lo que pueden ser utilizadas como herramientas valiosas para conocer las condiciones fisiológicas y patológicas de órganos (Shahjin et al., 2019; Cheng et al., 2020b; Crescitelli et al., 2020; Gallart-Palau et al., 2020; Muraoka et al., 2020).

Sobre los nuevos métodos de aislamiento, se están desarrollando aquellos basados en chips, como el chip dielectroforético, y otras metodologías, como la cromatografía o la ultrafiltración, combinándose con técnicas de enriquecimiento de subtipos de EVs,

como la inmunoprecipitación y la diálisis de filtración hidrostática (Xu et al., 2017; Chen et al., 2019). La combinación de métodos de aislamiento puede aumentar la especificidad y eficiencia de las EVs (Kapogiannis et al., 2014; Chen et al., 2016b). Además, múltiples variables técnicas pueden alterar el perfil de EVs entre las que se incluyen el volumen de muestra, el tipo de tubos de recolección, los pasos de mezcla o agitación, el tiempo de almacenamiento, la temperatura, los métodos de aislamiento y la hemólisis del plasma, entre otros (Lacroix et al., 2012; Mullier et al., 2013; Soekmadji et al., 2020). Para tener una garantía de la validez en los análisis a largo plazo, las EVs purificadas deben ser almacenadas al menos a -80°C y evitar ciclos repetidos de congelación-descongelación para evitar su agregación (Lőrincz et al., 2014; Yuana et al., 2015; Jeyaram & Jay, 2017; Sluijter et al., 2018).

Como se comentaba, se puede aplicar una combinación de varios métodos de separación para aislar las EVs del plasma con una mínima contaminación por proteínas plasmáticas y partículas lipoproteicas (van der Vlist et al., 2012; Karimi et al., 2018). En cuanto a la fenotipificación de las EVs, el análisis de tetraspaninas (CD9, CD63 y CD81) se utiliza para evaluar la pureza y tasa de recuperación de las EVs (Tian et al., 2019).

5.1.5 Métodos de aislamiento de exosomas

Existen diferentes técnicas para el aislamiento de EXOs, cada una con sus ventajas y limitaciones. Algunas de estas técnicas son (Sidhom et al., 2020):

- **Ultracentrifugación diferencial (dUC):** Es la técnica estándar para el aislamiento de EXOs debido a su capacidad para obtener poblaciones relativamente puras de EXOs (Li et al., 2017). Se basa en la separación secuencial

de partículas por sedimentación dependiendo de su tamaño y densidad utilizando fuerzas y tiempos de centrifugación específicos (Livshits et al., 2015).

- **Ultrafiltración:** Utiliza membranas con poros de diámetros específicos para aislar partículas dentro de un intervalo de tamaño predeterminado (Cheruvanky, 2007; Lobb et al., 2015; Konoshenko et al., 2018). Permite eliminar primero las partículas más grandes y luego las más pequeñas para obtener un filtrado rico en EXOs. Se puede utilizar como método complementario a la dUC para separar EXOs y microvesículas. Otro método de nano-ultrafiltración que emplea filtraciones secuenciales para aislar EXOs se conoce como filtración cruzada o filtración tangencial (McNamara et al., 2018).

- **Precipitación basada en polietilenglicol:** Emplea una solución de polietilenglicol para formar agregados de EXOs que luego pueden ser precipitados por centrifugación a baja velocidad (Weng et al., 2016; Konoshenko et al., 2018). Aunque puede aislar EXOs, también se co-precipitan proteínas no exosomales, inmunoglobulinas, partículas virales, complejos inmunes y otros contaminantes, disminuyendo la pureza de la preparación (Li et al., 2017; Konoshenko et al., 2018). Adicionalmente, se puede realizar una inmunoprecipitación de EXOs utilizando marcadores específicos, como CD9 (Li et al., 2017) u otras tetraspaninas, para mejorar la pureza de las preparaciones, aunque esto puede llevar a un aislamiento "sesgado" al enfocarse en una población de EXOs específica.

- **Captura por inmunoadinidad:** Consiste en la separación de EXOs específicos en función de las proteínas que expresan en su superficie (Koliha et

al., 2016; Boriachek et al., 2019). Para aislar EXOs con alta especificidad utiliza anticuerpos contra estos marcadores proteicos específicos como las tetraspaninas CD9, CD63 y CD81. También se pueden usar otros marcadores específicos de las células madre, como el peptidoglicano del 4-sulfato de condroitina (Sharma et al., 2018), la molécula de adhesión celular epitelial (EPCAM) (Zhou et al., 2015), o moléculas de unión a EXOs como las proteínas de choque térmico (Ghosh et al., 2014) y la heparina (Balaj et al., 2015). La captura por inmunidad se utiliza comúnmente como un paso adicional combinado con la dUC para aumentar la pureza de los EXOs aislados. La principal desventaja es que se selecciona un subconjunto de vesículas específicas de marcadores que pueden no reflejar todos los EXOs.

- **Microfluidos:** Es un método de alto rendimiento que se basa en principios como la inmunoadherencia, tamaño y densidad, utilizando dispositivos microfluídicos para aislar EXOs (Chen et al., 2010). La inmuno-microfluídica es el método más usado comúnmente, que es similar al método de captura por inmunoadfinidad. Los EXOs se separan mediante la unión específica de anticuerpos inmovilizados en los dispositivos microfluídicos, también conocidos como chips, con los marcadores de EXOs. El ExoChip, con anticuerpos frente a CD63, es un dispositivo microfluídico comúnmente utilizado para aislar EXOs (Chen et al., 2010). Las ventajas de esta técnica incluyen un procesamiento eficiente y rápido, con un alto nivel de pureza de los EXOs, pero tienen la desventaja de que son muy complejos y costosos (Carnino et al., 2019).

- **Cromatografía de exclusión según tamaño molecular (SEC):** Utiliza una fase móvil (normalmente tampón fosfato salino) y una fase estacionaria de gel poroso para separar partículas por tamaño molecular. La naturaleza de la fase estacionaria permite la elución diferencial: las partículas más grandes eluyen primero, seguidas por vesículas más pequeñas y, a continuación, las proteínas no unidas a membrana (Contreras-Naranjo et al., 2017). La fase estacionaria o la columna de cromatografía puede rellenarse con diversos polímeros de gel, incluyendo dextranos reticulados, agarosa, poliacrilamida o alildextrano. Cuando se pretende identificar el subtipo de EV, se recomienda combinar la SEC con métodos de captura por inmunoafinidad. La SEC consigue una pureza mayor de los EXOs aislados, superando a otras técnicas, principalmente al disminuir la contaminación de proteínas plasmáticas (Baranyai et al., 2015).

Cada una de estas técnicas tiene sus ventajas y limitaciones. Por tanto, la elección de uno o varios métodos combinados dependerá del propósito y las características específicas del estudio. La pureza y especificidad en el aislamiento de EXOs se puede mejorar al combinar diferentes métodos (Sidhom et al., 2020).

5.1.6 Aplicaciones de las vesículas extracelulares y exosomas

Numerosos estudios abordando la biología de los EXOs en la enfermedad y su utilidad en el diagnóstico y tratamiento clínico han surgido recientemente. La carga encapsulada por los EXOs es compleja y es una vía de acceso a diagnósticos clínicos para la detección y seguimiento de distintas patologías. Además, la posibilidad de que los EXOs liberen diversas cargas funcionales en células disfuncionales ha favorecido el estudio para su

uso como vehículos terapéuticos (Kalluri & LeBleu, 2020). Por ello, son necesarias técnicas fiables y reproducibles de aislamiento para el desarrollo de terapias basadas en EVs (Soekmadji et al., 2020).

Como decíamos, los EXOs están siendo explorados de manera activa como agentes terapéuticos, por sí mismos o como vehículos para la distribución de fármacos y compuestos bioactivos. La aplicación de EXOs como herramienta terapéutica en animales es bien tolerada por lo que su aplicación en humanos es prometedora (Zhu et al., 2017; Mendt et al., 2018). Estudios en animales han demostrado que los EXOs, a diferencia de los liposomas, al ser suministrados de manera exógena mediante inyección, pueden entrar eficientemente en otras células y liberar su carga, presentado una mínima eliminación por el sistema inmune (Ferguson & Nguyen, 2016; Kalluri, 2016; Barile & Vassalli, 2017; Liao et al., 2018; Fitts et al., 2019).

Las EVs de varias células son capaces de cruzar las barreras tisulares, incluida la barrera hematoencefálica (Yuan et al., 2017; Qu et al., 2018), lo que ha sido demostrado en estudios animales, además de que pueden ser modificadas para que expresen moléculas de orientación; mediante el cultivo de células donantes en medios diferentes, la carga indirecta de fármacos endógenamente o mediante la carga exógena de EVs con métodos de electroporación o sonoporación (Soekmadji et al., 2016a, 2016b; Tian et al., 2014; Sun et al., 2010; Vader et al., 2016). El desarrollo de direccionamiento tisular por medio de receptores se ha realizado mediante el enriquecimiento en función de la presentación de ligandos en su superficie, como tetraspaninas e integrinas. Los EXOs han sido utilizados para encapsular fármacos quimioterapéuticos usados en la terapia

del cáncer, probándose en ratones donde se observó una menor toxicidad y presentar eficacia antitumoral (Kim et al., 2016).

Otras cargas que se han encapsulado en EXOs incluyen micro-ARNs (miARN) y ARN de silenciamiento (siARN) para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central y el cáncer, debido a que se ha demostrado que los miARNs exosomales pueden interactuar de forma eficaz con el ARNm diana suprimiendo la expresión génica en células receptoras. Además, los ARN exosomales presentarían protección contra la degradación por ribonucleasas de la sangre (Cheng et al., 2014), siendo mayormente retenidos en el organismo en comparación con los liposomas, lo que les permitiría ejercer su efecto en dianas sistémicas del organismo. También, serían protegidos de la fagocitosis y posterior eliminación de la circulación sanguínea debido a la presencia de CD47, que actuaría como una molécula de señalización evitando que los fagocitos los degradaran (Kamerkar et al., 2017).

Las EVs de glóbulos rojos humanos se han propuesto como vehículos de liberación para terapia génica, administrando ARNm Cas9, guías ARN y oligonucleótidos antisentido a células cancerosas (Usman et al., 2018). Las EVs principalmente caracterizadas y que han demostrado ser eficaces a nivel terapéutico son las derivadas de células madre mesenquimales. Se ha demostrado la eficacia terapéutica de estas EVs hasta en 30 modelos animales de diversas enfermedades humanas, además de proteger contra lesiones inducidas por toxinas (Tan et al., 2014; Yeo & Lim, 2015; Yan et al., 2017; Perets et al., 2018; Mardpour et al., 2019; Williams et al., 2019). Otra utilidad de las EVs puede ser el desarrollo de vacunas para enfermedades infecciosas, tanto en humanos

como en animales, utilizando EVs que transportan antígenos específicos de organismo patógenos (Soekmadji et al., 2020).

También, se han utilizado EXOs derivados de la leche bovina (EXOs-L) para encapsulación y administración de (poli)fenoles. Por ejemplo, un estudio utilizó EXOs-L cargados con altas concentraciones de CUR y describió la detección de este (poli)fenol en cerebro, hígado y pulmón de ratas, después de su administración, por lo que parece que estos EXOs sirvieron como vehículo de liberación del (poli)fenol en diversos tejidos (Aqil et al., 2017). Sin embargo, la metodología de producción y purificación de EXOs-L y su carga con compuestos bioactivos provenientes de la dieta aún debe ser estandarizada. *En este sentido, hacen falta más estudios que prueben la utilización de EXOs-L para la encapsulación de otros (poli)fenoles y su administración a modelos animales para estudiar su transporte, distribución en diferentes tejidos del organismo y si pueden proteger a los (poli)fenoles del metabolismo.*

Por otro lado, los (poli)fenoles también pueden influir en las rutas de señalización implicadas en la producción de estas EVs. Estudios previos han identificado que algunos (poli)fenoles eran capaces de inducir una reducción en la producción de micropartículas del endotelio y plaquetas, mientras que otro estudio identificó que la CUR era capaz de promover la secreción de EXOs en líneas celulares, eliminando el colesterol almacenado en células con el transporte de colesterol alterado, además de inducir la producción de ceramidas en células gliales (López Andrés et al., 2012; Horn et al., 2014; Canfrán-Duque et al., 2014, 2015; García-Seisdedos et al., 2020). El tratamiento con RSV de células microgliales, también fue capaz de promover la liberación de EVs con potencial para

cruzar la barrera hematoencefálica, inducir autofagia e inhibir la apoptosis neuronal (Fan et al., 2020).

Sin embargo, seguimos sin comprender completamente los mecanismos que modulan la secreción de EXOs y el contenido de su carga después de una intervención con (poli)fenoles (Figueira et al., 2023). Hay evidencia escasa sobre la presencia de (poli)fenoles en la carga de EVs del plasma ya que sólo en un estudio en roedores se sugirió que proantocianidinas y sus metabolitos fueran transportados en cantidades traza por las EVs (Arola-Arnal et al., 2020).

En seres humanos, sabemos que los (poli)fenoles pueden ser transportados en la circulación sanguínea por medio de lipoproteínas, albúmina, y glóbulos rojos (Ivanov et al., 2001; Delmas & Lin, 2011; Harbi et al., 2020; Tung et al., 2020). Un estudio no fue capaz de demostrar la presencia de metabolitos fenólicos en la carga de exomas aislados del plasma de voluntarios sanos y pacientes afectados por trombosis paroxística nocturna (Vallejo et al., 2019). Sin embargo, el aislamiento de EXOs se produjo en ayunas, por lo que queda la duda de si fue esta variable la que impidió detectar (poli)fenoles y/o metabolitos derivados en los EXOs. Los EXOs se han sugerido como partículas mediadoras de las señales producidas por los compuestos fenólicos o para servir como nanovehículos contribuyendo a su transporte a los diversos órganos (Figueira et al., 2023; López de Las Hazas et al., 2022). *Sin embargo, aún se desconoce si como respuesta al consumo de (poli)fenoles, estos compuestos, sus metabolitos microbianos y/o los derivados conjugados pueden ser transportados por medio de EVs en el organismo humano.*

Es vital mantener los más altos estándares de aislamiento y producción de EVs para su uso en intervenciones en humanos. El uso y evaluación clínica de nuevas terapias basadas en EVs están incluidos en las directrices europeas publicadas por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) sobre sustancias biológicamente activas, mientras que, en los Estados Unidos de América, se considerarían productos biológicos y están reguladas en la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) por el Centro de Evaluación e Investigación de Productos Biológicos. Es necesaria la evaluación de la eficacia y seguridad de las terapias basadas en EVs, además de los requisitos en su aislamiento, almacenamiento y caracterización, para garantizar la calidad y seguridad tanto del donante como del receptor (Soekmadji et al., 2020).

5.2 Probióticos, prebióticos, postbióticos y simbióticos

5.2.1 Probióticos

La definición consensuada de probióticos fue revisada y corregida en 2014, estableciéndola como: *"microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, proporcionan un beneficio para la salud del huésped"* (Hill et al., 2014). Definiciones anteriores decían que los microorganismos probióticos funcionan *"mejorando las propiedades de la microflora autóctona"* o *"contribuyendo al equilibrio microbiano intestinal del huésped"* (Parker, 1974, Havenaar & Huis In't Veld, 1992). Sin embargo, la definición actual de probiótico es más amplia e incluye también a aquellos microorganismos capaces de ejercer sus efectos beneficiosos mediante otros mecanismos de acción (**Figura 9**), y no considera que éstos sólo sean mediados por la

microbiota, ampliando la gama de posibilidades de su uso, lo que fomenta la innovación tecnológica en el campo de los probióticos (Gibson et al., 2017; Sanders et al., 2019).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son los microorganismos probióticos utilizados más comúnmente por la industria alimentaria debido a sus características beneficiosas para la salud (Nichols, 2007; Peng et al., 2020a). Normalmente, podemos encontrarlas en alimentos fermentados como los productos lácteos derivados de la leche de vaca, como yogures y kéfir, aunque también se pueden encontrar en otros productos de leches de origen no bovino (Champagne et al., 2018; Ranadheera et al., 2018). Las BAL probióticas son bacterias Gram positivas cuyo consumo se considera seguro para el organismo humano debido a que no son patógenas y se suelen encontrar asociadas con la microbiota intestinal normal, principalmente en las partes inferiores del tracto gastrointestinal (Angmo et al., 2016; Thursby & Juge, 2017).

Las BAL entran al organismo mediante el consumo de alimentos que las contienen, resistiendo el pH ácido estomacal, y alcanzando el intestino donde son capaces de transformar los carbohidratos en ácido láctico y otros compuestos. Esta producción de ácido láctico es beneficiosa para el huésped ya que reduce los niveles de pH intestinal ayudando a prevenir que microorganismos patógenos sobrevivan y crezcan (Nichols, 2007; Peng et al., 2020a). Estas bacterias han evolucionado hacia una relación beneficiosa mutua con el ser humano y pueden habitar en el tracto gastrointestinal por periodos prolongados, protegiendo al huésped contra microorganismos entéricos patógenos, obteniendo energía, y regulando el sistema inmune intestinal (**Figura 9**) (Thursby y Juge, 2017; Peng et al., 2020a). Su supervivencia y producción de metabolitos se puede ver significativamente afectada por los virus bacteriófagos. Actualmente, el

desarrollo de cepas novedosas genéticamente modificadas por medio de la expresión de genes funcionales es una metodología utilizada para incrementar la eficacia de los probióticos, mejorando su supervivencia y la producción de moléculas beneficiosas (Mathipa & Thantsha, 2017; Peng & Biswas, 2017; Peng et al., 2018).

Las bacterias probióticas han desarrollado evolutivamente mecanismos para controlar la asimilación de nutrientes, como es el caso de la asimilación del amonio, rutas metabólicas usadas por varios microorganismos anaerobios facultativos (Leigh & Dodsworth, 2007). Otro género bacteriano muy investigado como potencial probiótico es *Clostridium* debido a que posee un gran número de características biotecnológicas, como las cepas de *Clostridium acetobutylicum* que metabolizan el almidón y producen acetona y butanol (Peng et al., 2020a).

Además, las propiedades beneficiosas de los probióticos pueden diferir entre las cepas de una misma especie, como se ha visto por ejemplo en un estudio en lactantes donde una cepa no tuvo la capacidad de reducir el desarrollo de enterocolitis necrotizante, mientras que otra redujo significativamente la sepsis en los infantes (Costeloe et al., 2016; Panigrahi et al., 2017; Sanders et al., 2019).

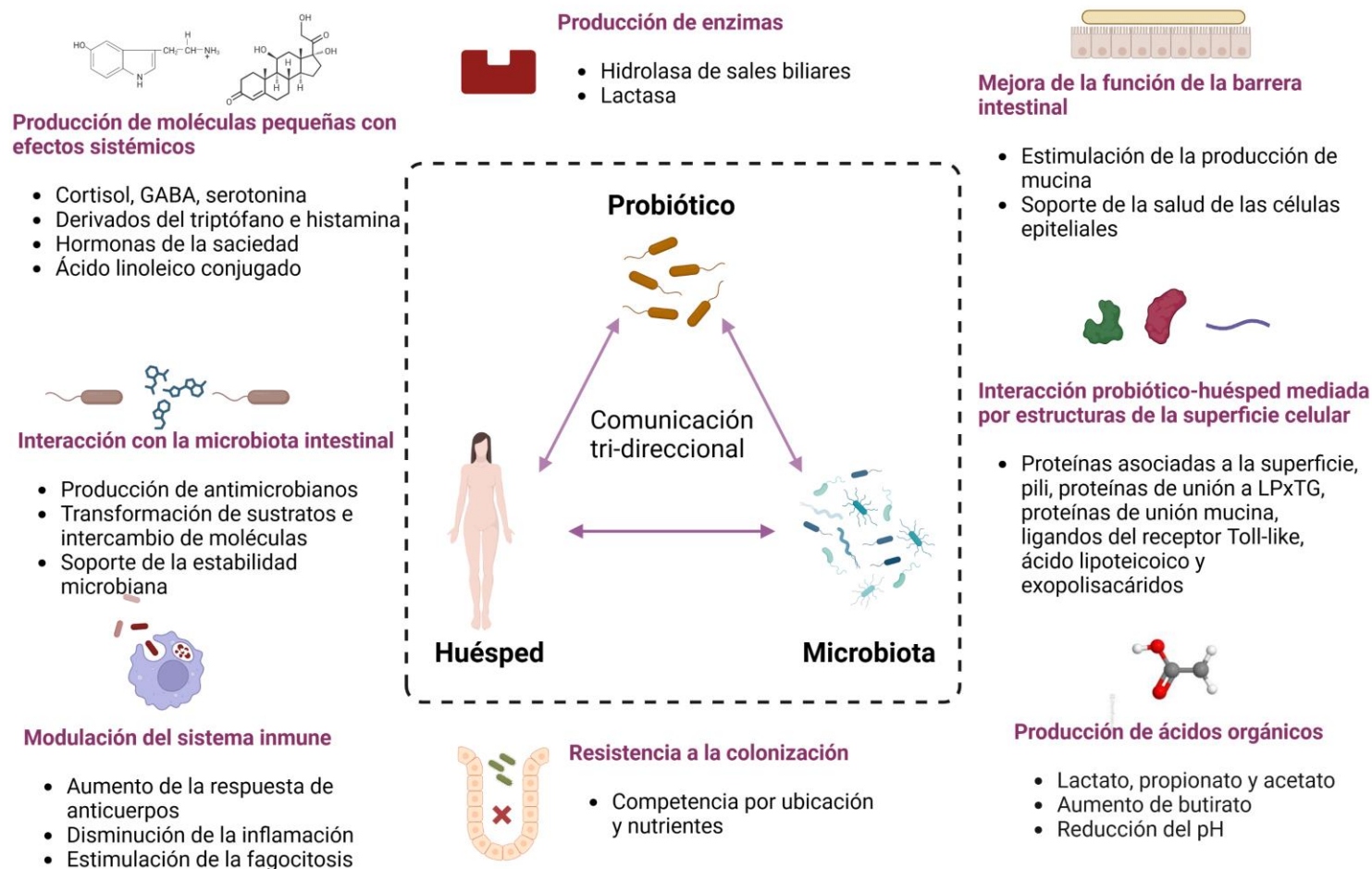


Figura 9. Probióticos y sus mecanismos de acción. GABA, ácido gamma-aminobutírico. Adaptada de Sanders et al., 2019.

Otros mecanismos de acción por los que los probióticos ejercen sus efectos beneficiosos son los asociados a la resistencia a la colonización por otras bacterias, donde la microbiota intestinal nativa puede prevenir la infección por potenciales patógenos (Chiu et al., 2017; Sanders et al., 2019). De hecho, el resultado final de los efectos ejercidos por un probiótico en la salud depende de muchos factores del huésped (Sanders et al., 2019). Por ejemplo, un estudio previo observó que las propiedades de la microbiota basal estaban vinculadas con la persistencia de probióticos en el intestino. Un mayor conocimiento de estos mecanismos de acción potenciaría el desarrollo de una amplia gama de productos probióticos. Además, existe la oportunidad de identificar otros microorganismos con capacidades funcionales diferentes a las asociadas a los probióticos tradicionales, como, por ejemplo, sabemos que los metabolitos microbianos propionato y butirato, considerados beneficiosos para la salud intestinal, no son producidos por ninguno de los probióticos tradicionales dentro de las bifidobacterias y lactobacilos (Kostinek et al., 2007; González-Rodríguez et al., 2013; Sanders et al., 2019). *En este sentido, se abren nuevos escenarios para el desarrollo de potenciales nuevos probióticos, como es el caso de microorganismos capaces de producir metabolitos específicos con efectos saludables, característicos de metabotipos de (poli)fenoles, en aquellos individuos que nos son capaces de producirlos de forma natural.*

5.2.2 Prebióticos

La definición de prebiótico fue revisada y corregida en 2015, estableciéndolo como: *"compuesto no digerible que, a través de su metabolización por microorganismos en el intestino, modula la composición y/o actividad de la microbiota intestinal, otorgando así*

un efecto fisiológico beneficioso en el huésped" (Bindels et al., 2015). Una definición aún más reciente, publicada en 2017, los define como *"sustrato que es selectivamente utilizado por microorganismos del huésped y que confiere un beneficio para la salud"*, clarificando qué sustancias pueden ser incluidas o no como prebióticos (Gibson et al., 2017). Es decir, los prebióticos ya no simplemente promueven el crecimiento de bacterias, como lactobacilos y bifidobacterias, sino que ahora afectan indicadores fisiológicos y metabólicos en el organismo (Gibson et al., 2017; Sanders et al., 2019). Los prebióticos principalmente entran y ejercen sus efectos en el organismo a través del tracto gastrointestinal. Sin embargo, nuevas investigaciones están explorando su efecto en las comunidades microbianas del tracto urogenital, piel y la zona buco-nasal (Collins et al., 2018). Las actualizaciones de la definición de prebiótico han permitido que también se reconozcan otras sustancias prebióticas como los (poli)fenoles y los ácidos grasos poliinsaturados y no restringirse sólo a los carbohidratos complejos como lo hacía anteriormente (Sanders et al., 2019).

Los carbohidratos no digeribles por el huésped son los prebióticos más conocidos y estudiados. Están presentes en los alimentos y pueden estimular la función metabólica y el crecimiento selectivo de microorganismos beneficiosos en el intestino, proporcionando un beneficio para la salud del huésped (Watson & Preedy, 2015; Gibson et al., 2017; Peng et al., 2020a). En la industria alimentaria, estos componentes han sido integrados en los alimentos con el objetivo de mejorar la función de sus nutrientes promoviendo la salud, como es el caso de alcoholes de azúcar, lactosacarosa, oligosacáridos, almidón resistente, inulinas, lactulosa y pirodextrinas, entre otros (Farias et al., 2019; Guimarães et al., 2020). Así, por ejemplo, los β -glucanos e inulinas se utilizan

como aditivos o suplementos en diversos alimentos como los productos lácteos o zumos de frutas (Aydinol & Ozcan, 2018; Fonteles & Rodrigues, 2018; Moghadam, et al., 2019; Prasanna & Charalampopoulos, 2019). Los prebióticos no sólo son capaces de modular la microbiota intestinal, sino que también pueden mejorar la función y la integridad de la pared intestinal, disminuir los niveles de metabolitos nitrogenados y reducir el pH intestinal (Watson & Preedy, 2015). Los prebióticos también pueden promover la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), por medio de su producción directa al ser fermentados por los microorganismos intestinales, o indirectamente mediante productos de fermentación de algunos microorganismos que pueden ser utilizados por otros para producir los AGCC (**Figura 10**) (Holscher, 2017).

Los polisacáridos vegetales son compuestos complejos que el huésped no es capaz de digerir, y solo pueden ser degradados por diferentes rutas metabólicas microbianas intestinales, produciendo metabolitos simples que el huésped puede utilizar (Candela et al., 2010; Flint, 2012; Flint et al., 2012; Peng et al., 2020a). Algunos de estos metabolitos microbianos son el acetato, lactato, etanol y ciertos oligosacáridos solubles, los cuales, cumplen funciones importantes en diversos órganos y tejidos como los músculos, riñones, corazón y cerebro, actuando como fuente de energía, ayudando en la diferenciación celular, así como en la señalización anti-angiogénica y anti-proliferativa (Roberfroid et al., 2010; Canani et al., 2011; Peng et al., 2020b).

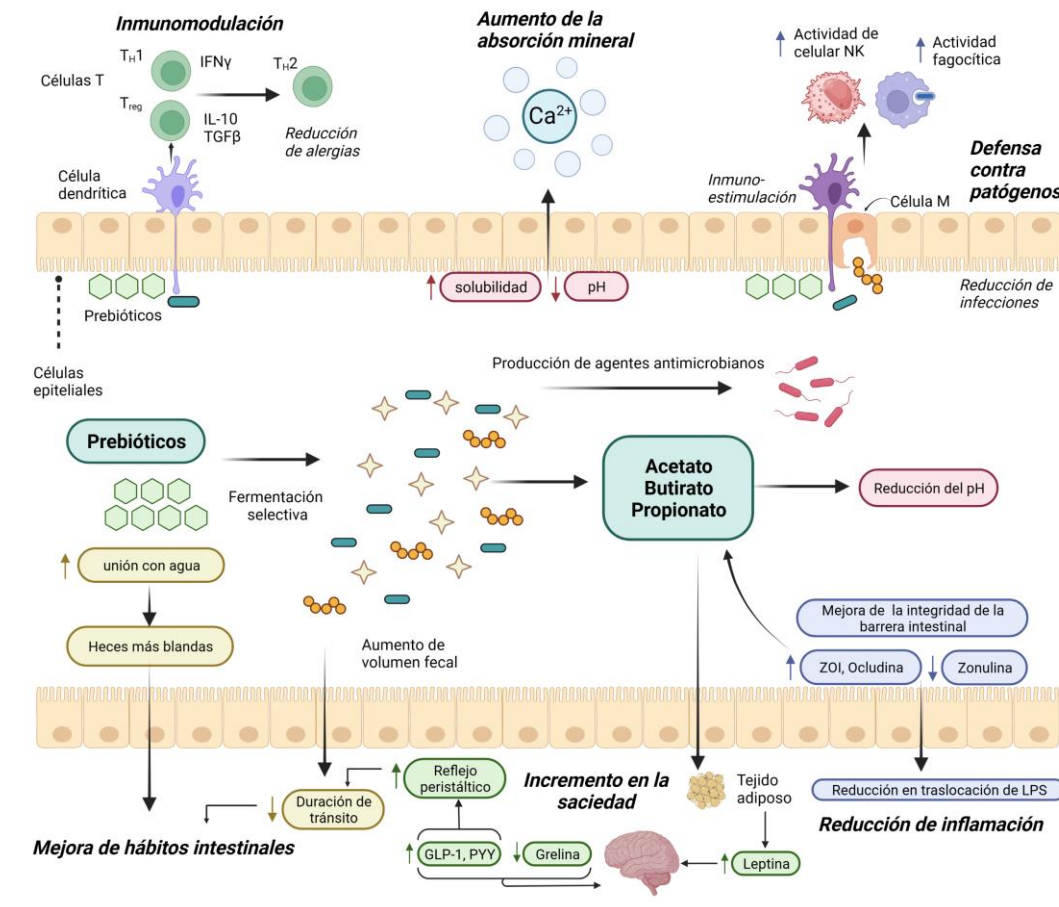


Figura 10. Efectos de los prebióticos. LPS, lipopolisacáridos; GLP-1, péptido similar al glucagón 1; NK, célula asesina; PYY, péptido YY; TGF β , factor de crecimiento transformante beta; T_H, célula ayudante T; ZO1, zónula occludens 1; IL, interlequina, IFN, interferón; Ca, calcio. Adaptada de Sanders et al., 2019.

Los mecanismos de acción de los prebióticos implican una interacción directa con las células del huésped y no se limitan solamente a las interacciones entre microorganismos. Por ejemplo, los prebióticos β -glucanos pueden provocar respuestas de las células inmunitarias al unirse a diversos receptores, desencadenando respuestas como cambios en la producción de citoquinas e inmunoglobulinas, e influyendo la maduración y migración de linfocitos (**Figura 10**) (Vogt et al., 2013; Jin et al., 2018).

5.2.2.1 Efecto prebiótico de los (poli)fenoles

Además de las fibras dietéticas, cada vez hay más evidencias del efecto prebiótico de otros compuestos bioactivos de los alimentos como los (poli)fenoles no absorbidos y sus metabolitos (Hervert-Hernandez & Goñi, 2011; Fatima et al., 2017; González-Sarrías et al., 2017a). De hecho, estudios recientes han indicado que los (poli)fenoles muestran propiedades prebióticas, pudiendo modular el perfil microbiano del intestino y regular la salud del huésped mediante el mantenimiento de la homeostasis, siendo estos efectos significativos incluso a bajas concentraciones (Alves-Santos et al., 2020; Moorthy et al., 2020). El efecto prebiótico de los (poli)fenoles está ampliamente asociado al establecimiento de bacterias probióticas o la supresión de bacterias patógenas, lo que resulta en una reducción de endotoxinas, regulando la respuesta inmune en el intestino, junto con otros beneficios, como un menor riesgo de infecciones, gastroenteritis, enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer de colon, y disfunciones metabólicas (Roberfroid et al., 2010; Mithul Aravind et al., 2021).

Los (poli)fenoles, grasas y fibras dietéticas, influyen significativamente en la composición microbiana del intestino. Cuando los carbohidratos fermentables se combinan con (poli)fenoles puede acelerarse la fermentación colónica mediante el catabolismo del (poli)fenol (Edwards et al., 2017; Gowd et al., 2019). En una fermentación de fibras dietéticas con muestras fecales humanas, se observó que la interacción entre ciertos (poli)fenoles y la fibra influyó en la producción de AGCC y ácidos fenólicos simples (Havlik et al., 2020).

Los efectos prebióticos beneficiosos que ejercen los (poli)fenoles están relacionados con la inhibición de bacterias patógenas, como *E. coli*, *Clostridium perfringens* y

Helicobacter pylori, y la mejora del crecimiento y establecimiento de ecologías microbianas probióticas que incluyen microorganismos de las familias *Bifidobacteriaceae* y *Lactobacillaceae* (Moraes et al., 2016). En general, cuando los individuos siguen una dieta rica en (poli)fenoles, se produce una reducción del ratio Firmicutes/Bacteroides, además de un aumento de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Roseburia*, *Akkermansia*, *Faecalibacterium* y *Bacteroides*, y una disminución de *Enterococcus faecalis* y *Lachnospiraceae* (Mithul Aravind et al., 2021).

Hay bastante evidencia que demuestra que las interacciones entre los (poli)fenoles de la dieta y la microbiota intestinal son de doble vía. Las diferentes interacciones de los (poli)fenoles con las membranas bacterianas y las enzimas secretadas por la microbiota intestinal pueden ser las responsables de los efectos selectivos observados. Además, estos efectos prebióticos han demostrado contribuir significativamente a los efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores, siendo la regulación de la respuesta inflamatoria celular y sistémica un mecanismo central de los efectos prebióticos de los (poli)fenoles y sus metabolitos, contribuyendo de forma directa o indirecta a la reducción del riesgo de enfermedades crónicas (Mithul Aravind et al., 2021).

5.2.3 Postbióticos y simbióticos

Cada vez es más frecuente encontrar el término "postbiótico" en diferentes productos comerciales y en la literatura. Aunque su definición se ha modificado recientemente, este término aún se usa de forma ambigua tanto en publicaciones como en productos comerciales. Recientemente, un panel de expertos consideró los diferentes elementos (científicos, comerciales y regulatorios) que abarcan este término, y propusieron una definición estableciendo la base para el futuro. Este panel limitó el

espectro de posibles sustancias admisibles como posibles postbióticos y lo definió como *"preparación de microorganismos inanimados y/o sus componentes celulares que confiere un beneficio para la salud del huésped"*. Por tanto, ya no se incluyen metabolitos de origen microbiano como AGCC y otros, como los metabolitos derivados de (poli)fenoles, sino que los postbióticos son células o componentes microbianos inactivos, con o sin metabolitos, que contribuyan a los beneficios observados para la salud (Salminen et al., 2021).

Durante la última década se han utilizado también otros términos relacionados a los postbióticos, incluyendo “paraprobióticos”, “parapsicobióticos”, “probióticos fantasma”, “metabióticos”, “probióticos titulados” y “lisados bacterianos”. Sin embargo, sería recomendable el uso de un solo término bien definido y entendido en lugar de usar términos dispares para conceptos similares (Taverniti & Guglielmetti, 2011; Shenderov, 2013; Sugawara et al., 2016; Lopetuso et al., 2017; Nishida et al., 2017; Deshpande et al., 2018; Jurkiewicz & Zielenkiewicz, 2018; Kanauchi et al., 2018; Murata et al., 2018; Pique et al., 2019; Sharma et al., 2020). El mercado de los postbióticos puede ser ventajoso frente al de los probióticos, ya que muchos de estos microorganismos vivos son sensibles al calor y al oxígeno, siendo difícil mantener su estabilidad en procesos industriales y durante almacenamiento. En contraste, los productos comerciales a base de postbióticos podrían tener una vida útil más larga (Salminen et al., 2021).

Aunque los postbióticos han estado presentes durante largo tiempo en Europa (Yin et al., 2018), no existe un reglamento específico en la Unión Europea que regule ni a los postbióticos, ni tampoco a probióticos, prebióticos y simbióticos (Salminen et al., 2021). Sin embargo, la Autoridad Europea en materia de Seguridad Alimentaria (EFSA)

desarrolla de forma regular listas actualizadas con los microorganismos que cumplen con los criterios de seguridad para su uso en alimentos, denominados QPS (Presunción Cualitativa de Seguridad). Esto se aplicaría a microorganismos vivos que se usan para la producción de postbióticos, y los que no se encuentran en la lista requieren ser aprobados en Europa para poder ser usados para el desarrollo de postbióticos para alimentos o piensos. Debido a que han perdido la capacidad de replicarse, por lo que no pueden causar bacteriemia, los postbióticos tienen un perfil de seguridad mayor que los probióticos (Yelin et al., 2019). Sin embargo, no se debe suponer su seguridad únicamente por el perfil de seguridad del microorganismo productor. Por ejemplo, los lipopolisacáridos de bacterias Gram negativas liberados cuando estas mueren pueden inducir sepsis y shock tóxico (Periti & Mazzei, 1998).

El efecto de los postbióticos en la salud puede ser promovido por diversos mecanismos diferentes, ya que los postbióticos pueden incluir una mezcla diversa de componentes, aunque estos mecanismos podrían ser similares a los de los probióticos en algunos casos (Hill et al., 2014; Lebeer et al., 2018; Salminen et al., 2021). Dentro de estas moléculas se incluyen aquellos que son componentes de las células, liberados en la lisis bacteriana, como los ácidos teicoicos, ciertos exopolisacáridos, péptidos derivados del peptidoglicano y otros componentes de la pared celular (Tsilingiri & Rescigno, 2013; Plovier et al., 2017; Aguilar-Toalá et al., 2018; Lebeer et al., 2018).

Actualmente, la evidencia indica que estos postbióticos podrían ejercer beneficios fisiológicos, manteniendo la salud intestinal principalmente por medio de actividades antiinflamatorias, antiproliferativas; antioxidantes, antimicrobianas, e inmunomoduladoras, aunque aún no se han identificado completamente sus

mecanismos de acción (Aguilar-Toalá et al., 2018; Lebeer et al., 2018). Últimamente, ha habido un creciente interés en los metabolitos de la microbiota intestinal derivados de los (poli)fenoles, antes de la re-definición del término, también considerados “postbióticos” (como otras moléculas tales como AGCC, bacteriocinas, etc.), por su posible rol mediador entre el consumo de (poli)fenoles y los efectos beneficiosos para la salud, y como elementos para desentrañar las interacciones entre el huésped y la microbiota intestinal (Espín et al., 2017; Anhê et al., 2019; Kawabata et al., 2019; Kumar Singh et al., 2019; Mills et al., 2019).

Por último, los simbióticos son mezclas de prebióticos y probióticos, formulados para inducir la estimulación del crecimiento de microorganismos comensales y probióticos específicos, además de que estas mezclas están diseñadas específicamente para mejorar la colonización y supervivencia de los microorganismos probióticos en el hospedador (Gourbeyre et al., 2011; Pandey et al., 2015; Peng et al., 2020a). La definición actualizada de simbiótico, los define como *"una mezcla que comprende microorganismos vivos y sustrato(s) selectivamente utilizados por microorganismos del hospedador que confiere un beneficio para la salud en el hospedador"* (Swanson et al., 2020; Salminen et al., 2021). Para que estas formulaciones sean efectivas deben diseñarse evitando que las bacterias comensales superen a los microorganismos probióticos en el uso de los compuestos prebióticos (Krumbeck et al., 2018). Los efectos inmunomoduladores que ejercen los simbióticos son diferentes a los efectos del prebiótico o probiótico por separado, por lo que las respuestas celulares pueden cambiar según la combinación de probióticos, prebióticos y tipos de células del

hospedador, demostrando la complejidad de estas relaciones (Huang et al., 2015, Lépine & de Vos, 2018).

CAPÍTULO 2

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Como se ha explicado en la introducción, existe una gran variabilidad inter-individual en el metabolismo de ciertos (poli)fenoles de la dieta por la microbiota intestinal, lo que dificulta el poder extraer conclusiones precisas sobre la relación causa-efecto entre consumo de (poli)fenoles y la salud. En algunos casos, como el de elagitaninos e isoflavonas, es posible agrupar a la población en diferentes fenotipos metabólicos o metabotipos, según el perfil de metabolitos microbianos producidos y su microbiota intestinal asociada. Sin embargo, aún se desconoce si existen otros metabotipos y (o) metabolitos microbianos para otros (poli)fenoles de la dieta. Esta estratificación por metabotipos puede ser útil para identificar los efectos diferenciales en la salud tras el consumo de estos compuestos y (o) sus metabolitos derivados. También, hay que tener en cuenta que el aporte de (poli)fenoles en la dieta es muy variado, especialmente si es rica en frutas y hortalizas, ingiriendo una gran cantidad de compuestos fenólicos diferentes. Por ello, consideramos más adecuado adoptar un enfoque holístico donde se investigue la presencia de diversas combinaciones de los metabotipos de (poli)fenoles en la población, es decir, diferentes agrupaciones de metabotipos, teniendo en cuenta el perfil de metabolitos producidos por los individuos.

Además de los metabotipos y metabolitos de (poli)fenoles, también es importante identificar las diferentes bacterias responsables de estas transformaciones metabólicas. En este sentido, por ejemplo, aún se desconocen las bacterias o consorcios implicados en el metabolismo del ácido elágico para llegar hasta las diferentes urolitinas (UROs) finales: Uro-A, IsoUro-A y Uro-B. Tampoco se ha investigado la capacidad de estas

bacterias para reproducir los metabotipos ni su seguridad como potenciales probióticos de futuro.

Como se ha explicado en la introducción, otra gran limitación de los (poli)fenoles para poder realizar su acción en tejidos sistémicos, es su baja biodisponibilidad, por lo que es necesario explorar estrategias que busquen mejorar este aspecto. Recientemente, está en aumento el uso de vesículas extracelulares como los exosomas derivados de leche bovina (EXOs-L) para la encapsulación y transporte de fármacos y diversas moléculas bioactivas, debido a su biocompatibilidad y escalabilidad. Sin embargo, hay escasos estudios que hayan utilizado los EXOs para vehiculizar (poli)fenoles y comparar su concentración y efecto en tejidos versus la administración de los (poli)fenoles libres. Asimismo, tampoco se ha explorado la posible encapsulación y transporte en la circulación sanguínea de (poli)fenoles y sus metabolitos microbianos en EXOs humanos.

Por lo tanto, considerando todo lo anterior, el **objetivo general** planteado en esta Tesis Doctoral es:

“Avanzar en el conocimiento de los metabotipos, la microbiota intestinal asociada y nuevas plataformas biológicas de transporte de (poli)fenoles para explicar la variabilidad inter-individual humana en el binomio (poli)fenoles-salud”.

Para abordar este objetivo se plantean los siguientes objetivos específicos:

- ***Objetivo 1: Perspectivas actuales sobre la variabilidad inter-individual en el binomio (poli)fenoles-salud y el papel de la microbiota intestinal***

Se revisará la evidencia actual relacionada con la variabilidad inter-individual en los efectos de los (poli)fenoles sobre la salud, resaltando el papel de la microbiota

intestinal en dicha variabilidad. Se prestará especial atención a la relación causa-efecto en el binomio (poli)fenoles-salud aportando una nueva visión sobre la temática. Después ejemplificaremos esta cuestión causa-efecto con los elagitaninos-ácido elágico y sus metabolitos, las UROs, centrándonos en su potencial papel neuroprotector.

- **Objetivo 2: Metabotipado y modulación de la microbiota intestinal en una cohorte tras consumo de un nutraceutico rico en (poli)fenoles.**

Se investigará la existencia de otros posibles nuevos metabotipos y metabolitos procedentes del metabolismo del resveratrol (RSV). Se explorará la distribución de los metabotipos en humanos hasta ahora descritos (metabotipos de UROs y producción de equol) en adultos sanos. Por último, se caracterizarán a nivel de composición, funcionalidad y redes de interacción las ecologías microbianas de cada agrupación de metabotipos y su modulación a corto plazo tras el consumo de estos extractos para establecer posibles diferencias según agrupaciones.

- **Objetivo 3: Personalización de metabotipos de urolitinas utilizando potenciales probióticos**

Se aislarán e identificarán las bacterias o consorcios implicados, no descritos hasta ahora, en el metabolismo del ácido elágico para dar lugar a los diferentes perfiles metabólicos de producción de UROs finales (Uro-A, IsoUro-A y/o Uro-B). Después, se estudiará la capacidad de los distintos consorcios bacterianos

identificados, para reproducir los metabotipos de UROs *in vitro*. Finalmente, en un modelo de rata no productor de UROs se evaluará la capacidad estos consorcios para replicar los metabotipos de UROs según las bacterias administradas oralmente, así como la seguridad y efecto sobre la microbiota intestinal de estos potenciales probióticos.

- **Objetivo 4: Explorar el papel de los exosomas de leche bovina y humanos en la biodisponibilidad, transporte y actividad de (poli)fenoles y sus metabolitos.**

Se evaluará la biodisponibilidad, transporte y distribución en tejidos de (poli)fenoles encapsulados en EXOs derivados de la leche bovina en un modelo de rata y sus efectos en modelos celulares utilizando concentraciones similares a las detectadas en los tejidos. Además, se estudiará la farmacocinética del transporte plasmático de (poli)fenoles y sus metabolitos microbianos a través de vesículas extracelulares ricas en EXOs en un grupo de voluntarios adultos sanos.

CAPÍTULO 3



Cite this: DOI: 10.1039/d1fo02033a

Main drivers of (poly)phenol effects on human health: metabolite production and/or gut microbiota-associated metabotypes?Carlos E. Iglesias-Aguirre, ^a Adrián Cortés-Martín, ^a María Á. Ávila-Gálvez, ^{b,c} Juan A. Giménez-Bastida, ^a María V. Selma, ^a Antonio González-Sarrías ^a and Juan Carlos Espín ^{*,a}

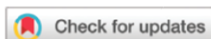
Iglesias-Aguirre, C. E., Cortés-Martín, A., Ávila-Gálvez, M. Á., Giménez-Bastida, J. A., Selma, M. V., González-Sarrías, A., & Espín, J. C. (2021). Main drivers of (poly)phenol effects on human health: metabolite production and/or gut microbiota-associated metabotypes? *Food & Function*, 12(21), 10324–10355.

URL: <https://doi.org/10.1039/d1fo02033a>**RESUMEN**

A pesar de la alta variabilidad interindividual en la respuesta a la ingesta de (poli)fenoles, la relación causa-efecto entre algunos (poli)fenoles dietéticos (flavanoles y fenoles del aceite de oliva) y los efectos en la salud (función endotelial y prevención de la oxidación del LDL, respectivamente) ha sido bien establecida. La mayoría de los factores que afectan a esta variabilidad interindividual se han identificado (matriz alimentaria, microbiota intestinal, polimorfismos de nucleótido único, etc.). Sin embargo, no se han

identificado completamente los factores finales que influyen en los efectos en la salud de la ingesta de (poli)fenoles. Al menos parcialmente, estos factores podrían ser (i) los (poli)fenoles ingeridos que ejercen su efecto en el tracto gastrointestinal, (ii) los metabolitos biodisponibles que ejercen sus efectos a nivel sistémico y/o (iii) la ecología microbiana intestinal asociada con el metabolismo de (poli)fenoles (es decir, los metabotipos asociados a la microbiota intestinal). Sin embargo, las asociaciones estadísticas entre los efectos en la salud y la presencia de metabolitos circulantes y/o excretados, así como estudios transversales que correlacionan las ecologías microbianas intestinales y la salud, no prueban de manera inequívoca un papel causal. Esta es una revisión crítica y perspectiva sobre los posibles principales factores que influyen en los efectos de los (poli)fenoles en la salud humana y sugerimos posibles acciones para identificar los posibles actores responsables de estos efectos.

CAPÍTULO 4



Cite this: DOI: 10.1039/d2fo01475k

Received 30th May 2022,
Accepted 23rd June 2022

DOI: 10.1039/d2fo01475k

4-Hydroxydibenzyl: a novel metabolite from the human gut microbiota after consuming resveratrolC. E. Iglesias-Aguirre,^a F. Vallejo,^a D. Beltrán,^a J. Berná,^b J. Puigcerver,^b
M. Alajarín,^b M. V. Selma^a and J. C. Espín^{*,a}

Iglesias-Aguirre, C. E., Vallejo, F., Beltrán, D., Berná, J., Puigcerver, J., Alajarín, M., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2022). 4-Hydroxydibenzyl: a novel metabolite from the human gut microbiota after consuming resveratrol. *Food & Function*, 13(14), 7487–7493.

URL: <https://doi.org/10.1039/d2fo01475k>**RESUMEN**

Se sabe que el resveratrol (RSV) es metabolizado por la microbiota intestinal para formar dihidroresveratrol (DHRSV), lunularina (LUNU) y/o 3,4'-dihidroxi-trans-estilbeno (DHST). En este artículo describimos por primera vez que la LUNU puede ser adicionalmente deshidroxilada, pero solo en la posición 3, para producir 4-hidroxidibencilo, un nuevo metabolito encontrado en la orina después de la ingesta de RSV en participantes sanos. En contraste, el DHST no fue deshidroxilado adicionalmente y, por lo tanto, no se

detectó 4-hidroxi-*trans*-estilbeno como metabolito microbiano intestinal derivado del RSV. Las incubaciones *in vitro* fecales confirmaron los resultados *in vivo*.

CAPÍTULO 5

Lunularin Producers versus Non-producers: Novel Human Metabotypes Associated with the Metabolism of Resveratrol by the Gut Microbiota

Carlos E. Iglesias-Aguirre, Fernando Vallejo, David Beltrán, Elena Aguilar-Aguilar, Julio Puigcerver, Mateo Alajarín, José Berná, María V. Selma, and Juan Carlos Espín*

Iglesias-Aguirre, C. E., Vallejo, F., Beltrán, D., Aguilar-Aguilar, E., Puigcerver, J., Alajarín, M., Berná, J., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2022). Lunularin Producers versus Non-producers: Novel Human Metabotypes Associated with the Metabolism of Resveratrol by the Gut Microbiota. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 70(34), 10521–10531.

URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c04518>

RESUMEN

En este estudio describimos por primera vez la identificación consistente de dos metabotipos asociados con el metabolismo del resveratrol (RSV) por la microbiota intestinal humana, es decir, los productores de lunularina (LUNU) y los no productores de LUNU. En los voluntarios sanos (n = 195), el RSV se redujo a dihidroresveratrol (DHRV), pero sólo en el metabotipo productor de LUNU se dehidroxiló secuencialmente en la posición 5 para producir LUNU y en la posición 3 para producir 4-hidroxidibencilo.

Estos metabolitos (también 3,4'-dihidroxi-*trans*-estilbeno en algunos productores de LUNU) se detectaron en la orina y (o) heces del 74% de los voluntarios después de consumir RSV, mientras que el 26% carecía de estas actividades deshidroxilasa. El metabotipo no productor de LUNU fue más prevalente en mujeres ($P < 0,05$), pero independiente del índice de masa corporal y la edad de los individuos. Una reductasa de 4-estirilfenol en ambos metabotipos convirtió los estilbenos en sus dibencilos correspondientes, mientras que no se observó ninguna deshidroxilación en posición 4 en estilbenos o dibencilos. 4-hidroxi-*trans*-estilbeno, pinosilvina, dihidropinosilvina, 3-hidroxidibencilo y 3-hidroxi-*trans*-estilbeno no se detectaron *in vivo* ni *in vitro*. Es importante realizar investigaciones adicionales sobre los metabotipos de LUNU, la microbiota intestinal asociada y su impacto en la salud.

CAPÍTULO 6

Gut Bacteria Involved in Ellagic Acid Metabolism To Yield Human Urolithin Metabotypes Revealed

Carlos E. Iglesias-Aguirre, Rocío García-Villalba, David Beltrán, María Dolores Frutos-Lisón, Juan C. Espín, Francisco A. Tomás-Barberán, and María V. Selma*

Iglesias-Aguirre, C. E., García-Villalba, R., Beltrán, D., Frutos-Lisón, M. D., Espín, J. C., Tomás-Barberán, F. A., & Selma, M. V. (2023). Gut Bacteria Involved in Ellagic Acid Metabolism To Yield Human Urolithin Metabotypes Revealed. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 71(9), 4029–4035.

URL: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c08889>

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue identificar las bacterias intestinales que caracterizan los metabotipos A y B de urolitinas (UM-A y UM-B). Aquí describimos una nueva bacteria aislada de las heces de una mujer sana, capaz de producir los metabolitos finales urolitinas A y B, así como diferentes intermediarios. Además, describimos dos consorcios bacterianos intestinales que reprodujeron las rutas de formación de urolitinas tanto de UM-A como de UM-B mediante incubaciones *in vitro*. Esta es la primera vez que se demuestra la capacidad de cepas puras para metabolizar el ácido elágico de manera cooperativa y capaces de generar perfiles de urolitinas asociados con UM-A y UM-B. Las

bacterias productoras de urolitinas descritas podrían tener potencial como nuevos probióticos y en la fabricación industrial de urolitinas bioactivas para desarrollar nuevos ingredientes, bebidas, nutracéuticos, productos farmacéuticos y/o alimentos funcionales. Esto es especialmente relevante en individuos UM-0, ya que no pueden producir urolitinas bioactivas.

CAPÍTULO 7

Cite this: *Food Funct.*, 2023, 14, 2657***In vivo* administration of gut bacterial consortia replicates urolithin metabotypes A and B in a non-urolithin-producing rat model†**Carlos E. Iglesias-Aguirre, ^a Antonio González-Sarrias, ^a
Adrián Cortés-Martín, ^{a,b} María Romo-Vaquero, ^a Leire Osuna-Galisteo, ^a
José Joaquín Cerón,^c Juan Carlos Espín ^a and María Victoria Selma ^{*a}

Iglesias-Aguirre, C. E., González-Sarrias, A., Cortés-Martín, A., Romo-Vaquero, M., Osuna-Galisteo, L., Cerón, J. J., Espín, J. C., & Selma, M. V. (2023). *In vivo* administration of gut bacterial consortia replicates urolithin metabotypes A and B in a non-urolithin-producing rat model. *Food & Function*, 14(6), 2657–2667.

URL: <https://doi.org/10.1039/d2fo03957e>

RESUMEN

La capacidad de producción de urolitinas (UROs) y, en consecuencia, al menos en parte, los efectos para la salud atribuidos al consumo de elagitaninos y ácido elágico varían entre individuos. La razón es que no todos los individuos tienen la ecología bacteriana intestinal necesaria para producir los diferentes metabolitos de UROs. Se han descrito tres metabotipos humanos de UROs (UM-A, UM-B y UM-0) basados en perfiles de producción de UROs diferentes en poblaciones de todo el mundo. Recientemente, se

han identificado los consorcios bacterianos intestinales involucrados en el metabolismo del ácido elágico para producir los metabotipos productores de UROs (UM-A y UM-B) *in vitro*. Sin embargo, aún se desconoce la capacidad de estos consorcios bacterianos para personalizar la producción de UROs y replicar UM-A y UM-B *in vivo*. En el presente estudio, se evaluó la capacidad de dos consorcios bacterianos para colonizar el intestino de ratas no productoras de UROs (UM-0) y convertir a estos animales UM-0 en productores de UROs imitando los UM-A y UM-B. Se administraron oralmente dos consorcios de bacterias productoras de UROs a ratas Wistar no productoras de UROs durante 4 semanas. Las cepas bacterianas productoras de UROs colonizaron efectivamente el intestino de las ratas y la capacidad de producir UROs también se transfirió de manera efectiva. Las cepas bacterianas fueron bien toleradas. No se observaron cambios en otras bacterias intestinales, excepto una reducción en *Streptococcus*, ni efectos adversos en los parámetros hematológicos y bioquímicos. Además, se diseñaron y optimizaron con éxito dos procedimientos de qPCR para detectar y cuantificar los géneros bacterianos *Ellagibacter* y *Enterocloster* en muestras de heces. Estos resultados sugieren que estos consorcios bacterianos son seguros y podrían ser probióticos potenciales para su uso en humanos, lo cual es especialmente relevante para individuos UM-0, que no pueden producir UROs bioactivas.

CAPÍTULO 8

Article

Exosome-Containing Extracellular Vesicles Contribute to the Transport of Resveratrol Metabolites in the Bloodstream: A Human Pharmacokinetic Study

Carlos Eduardo Iglesias-Aguirre ^{1,†}, María Ángeles Ávila-Gálvez ^{2,3,†}, María-Carmen López de las Hazas ⁴, Alberto Dávalos ⁴ and Juan Carlos Espín ^{1,*}

Iglesias-Aguirre, C. E., Ávila-Gálvez, M. Á., López de Las Hazas, M. C., Dávalos, A., & Espín, J. C. (2022). Exosome-Containing Extracellular Vesicles Contribute to the Transport of Resveratrol Metabolites in the Bloodstream: A Human Pharmacokinetic Study. *Nutrients*, 14(17), 3632.

URL: <https://doi.org/10.3390/nu14173632>

RESUMEN

Los exosomas son vesículas extracelulares (EVs) que regulan la señalización intercelular al transferir pequeños ARN, proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y otros metabolitos a órganos locales o distantes, incluyendo el cerebro, al cruzar la barrera hematoencefálica. Sin embargo, aún no se ha descrito el transporte de (poli)fenoles en los EVs humanos. Por lo tanto, nuestro objetivo en este trabajo fue explorar (i) si el resveratrol (RSV) y/o sus metabolitos derivados se encuentran en la carga de los EVs ricos en exosomas (E-EVs) encontradas en la circulación sanguínea, (ii) cuándo ocurre

esta incorporación y (iii) si la ingesta de RSV estimula la liberación de E-EVs. En este estudio farmacocinético, voluntarios sanos ($n = 16$) consumieron una cápsula (420 mg de RSV) por la noche antes de asistir a la clínica y una cápsula adicional el día de la farmacocinética. La sangre y los E-EVs aislados se analizaron mediante UPLC-ESI-QTOF-MS. De 17 metabolitos encontrados en la sangre, se identificaron 9 en los E-EVs, pero no se encontró RSV libre. Los perfiles cinéticos de los metabolitos de RSV fueron similares en el plasma y en los E-EVs, pero con una concentración de metabolitos más alta en plasma que en los E-EVs. Sin embargo, el ratio plasma/E-EVs disminuyó en los metabolitos microbianos intestinales, lo que sugiere una mejor eficiencia de encapsulación en los E-EVs. Además, los glucurónidos de RSV, el dihidroresveratrol (DHRSV) y la lunularina (LUNU) se incorporaron a los E-EVs de manera más eficiente que sus sulfatos correspondientes, a pesar de que los glucurónidos alcanzaron concentraciones plasmáticas más bajas. Notablemente, se detectaron más E-EVs 10 horas después de la ingesta de RSV. Este estudio exploratorio proporciona la primera evidencia de que (i) los metabolitos de RSV son transportados por E-EVs en la circulación sanguínea, preferentemente en forma de glucurónidos en lugar de los sulfatos, (ii) la concentración y los perfiles cinéticos de los metabolitos microbianos intestinales son muy similares en los E-EVs y en plasma, y (iii) la ingesta de RSV estimula la secreción de E-EVs. En general, estos resultados abren nuevas vías de investigación sobre el posible papel de los E-EVs en los efectos en la salud de los (poli)fenoles.

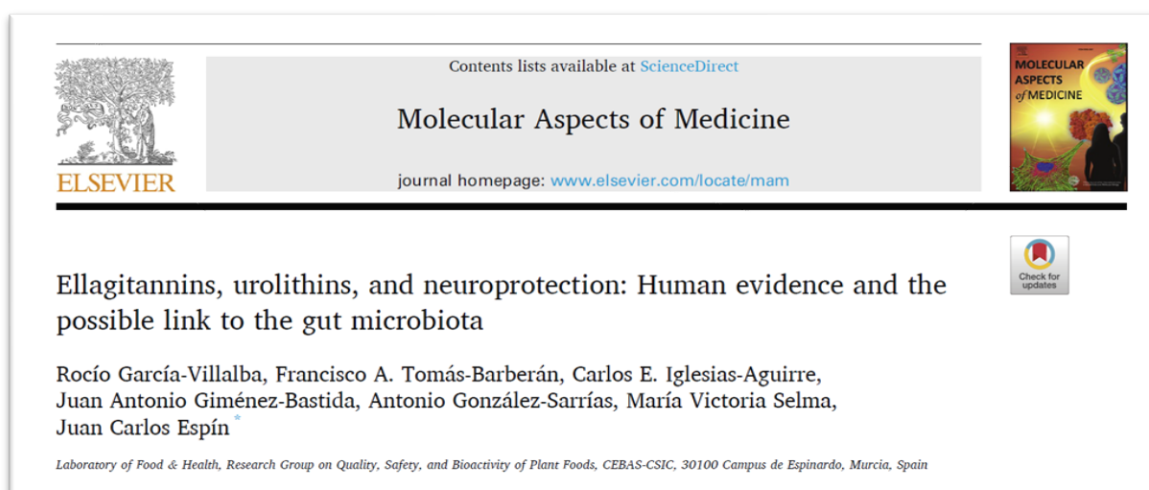
CAPÍTULO 9

ANEXOS

ANEXOS

Aquí se incluyen trabajos directamente derivados de la Tesis Doctoral pero que no forman parte del compendio de artículos:

9.1 Ellagitannins, urolithins, and neuroprotection: Human evidence and the possible link to the gut microbiota



Referencia: García-Villalba, R., Tomás-Barberán, F. A., **Iglesias-Aguirre, C. E.**, Giménez-Bastida, J. A., González-Sarrías, A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2023). Ellagitannins, urolithins, and neuroprotection: Human evidence and the possible link to the gut microbiota. *Molecular Aspects Of Medicine*, 89, 101109.

<https://doi.org/10.1016/j.mam.2022.101109>

RESUMEN

Los elagitaninos (ETs) y el ácido elágico (EA) son (poli)fenoles dietéticos que se absorben poco, pero son metabolizados ampliamente por la microbiota intestinal

humana para producir diferentes urolitinas (UROs). Dependiendo de las composiciones microbianas individuales, el metabolismo de ETs puede generar los UMs, A, B o O, lo que puede tener un efecto en la salud humana después del consumo de ETs. La evidencia en humanos sugiere una mejora en la salud cerebral después de consumir alimentos ricos en ETs, principalmente zumos de granada y extractos que contienen punicalagina, punicalina y diferentes derivados del EA. Aunque los ETs y (o) el EA son necesarios para ejercer estos efectos, el mecanismo preciso, los metabolitos reales o los impulsores finales responsables de los efectos observados no se han identificado. La evidencia de causa y efecto en la administración de Uro-A y la mejora de la salud cerebral en animales es consistente, pero aún no se ha abordado en humanos. Las actividades antiinflamatorias, de mitofagia, autofagia y biogénesis mitocondrial *in vivo* de Uro-A, sugieren que podría ser un posible impulsor final en la neuroprotección. Sin embargo, no se conoce la forma metabólica exacta de Uros que llega al cerebro. Además de la posible participación de efectores directos en los tejidos cerebrales, la evidencia actual señala que mejorar el flujo sanguíneo, la ecología de la microbiota intestinal y la barrera intestinal con alimentos ricos en ETs y (o) Uro-A podría contribuir a los efectos neuroprotectores. Aquí presentamos la evidencia actual en humanos sobre los ETs y la salud cerebral, el posible vínculo entre el metabolismo de ETs por parte de la microbiota intestinal y sus efectos, incluido el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal, y el posible papel de las Uros. Finalmente, proponemos acciones para abordar lo que falta en relación con los ETs, las UROs y la neuroprotección.

9.2 Unveiling metabotype clustering in resveratrol, daidzein, and ellagic acid metabolism: prevalence, associated gut microbiomes, and their distinctive microbial networks



Referencia: Iglesias-Aguirre, C. E., Romo-Vaquero, M., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2023).

Unveiling metabotype clustering in resveratrol, daidzein, and ellagic acid metabolism: prevalence, associated gut microbiomes, and their distinctive microbial networks. *Food Research International*, 173, 113470.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113470>

RESUMEN

La microbiota intestinal produce diferentes metabolitos derivados de (poli)fenoles, lo que genera una alta variabilidad entre individuos y dificulta la obtención de efectos saludables consistentes. Se conocen metabotipos de la microbiota intestinal asociados con el ácido elágico (EA) (UMA, UMB y UM0), resveratrol (productores de lunularina (LP) y no productores (LNP)), y daidzeína (productores de equol (EP) y no productores (ENP)).

Sin embargo, los metabotipos individuales relacionados con (poli)fenoles no ocurren de manera aislada, sino que diferentes combinaciones coexisten (es decir, agrupaciones o clústeres de metabotipos, MC).

En este estudio describimos por primera la existencia de estos MCs, su distribución y su relación con la microbiota intestinal en adultos después de consumir durante 7 días un nutraceutico (extracto de granada, *Polygonum cuspidatum* y trébol rojo) que contiene elagitaninos (ETs) y EA, resveratrol e isoflavonas. Se analizaron los metabolitos en la orina (UHPLC-QTOF-MS) y la microbiota fecal (secuenciación de ARNr 16S) de los individuos. Se identificaron diez MCs, y en cuanto a las características de los individuo, el sexo, el IMC y la edad no afectaron a los metabotipos ni a la distribución de las MC en la población estudiada. El análisis multivariante (MaAslin2) reveló géneros microbianos presentes de manera diferencial en metabotipos individuales y en los MCs. El análisis de redes (MENA) identificó taxones que actúan como nodos centrales y conectores entre módulos. La caracterización de la composición y funcionalidad, la diversidad alfa y beta, las características topológicas de la red y la modulación de la microbiota intestinal por el nutraceutico difirieron según si se consideraba la cohorte completa o cada MC por separado. El nutraceutico no cambió la composición del MC más robusto, LP+UMA+EP, pero aumentó sus conexiones en la red.

Este estudio combina características de composición, funcionalidad y redes de la microbiota intestinal en el metabolismo de (poli)fenoles, y abre camino para identificar estrategias personalizadas dirigidas a la microbiota intestinal para mejorar los beneficios saludables de los (poli)fenoles.

9.3 Milk-Derived Exosomes as Nanocarriers to Deliver Curcumin and Resveratrol in Breast Tissue and Enhance Their Anticancer Activity



Referencia: González-Sarrías, A., **Iglesias-Aguirre, C. E.**, Cortés-Martín, A., Vallejo, F., Cattivelli, A., Del Pozo-Acebo, L., Del Saz, A., López de Las Hazas, M. C., Dávalos, A., & Espín, J. C. (2022). Milk-Derived Exosomes as Nanocarriers to Deliver Curcumin and Resveratrol in Breast Tissue and Enhance Their Anticancer Activity. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(5), 2860.

<https://doi.org/10.3390/ijms23052860>

RESUMEN

Los (poli)fenoles dietéticos se metabolizan ampliamente, limitando su actividad anticancerígena. Los exosomas (EXOs) son vesículas extracelulares que podrían proteger a los (poli)fenoles del metabolismo. Nuestro objetivo fue comparar la llegada al tejido mamario y la actividad anticancerígena en líneas celulares de cáncer de mama de curcumina (CUR) y resveratrol (RSV) libres vs. su encapsulación en EXOs derivados de leche (EXO-CUR y EXO-RSV). Se realizó un estudio cinético de disposición en tejido

mamario en ratas. CUR y RSV se analizaron utilizando UPLC-QTOF-MS y GC-MS, respectivamente. Se probó la actividad antiproliferativa en células de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231 y células no cancerígenas MCF-10A. Se determinó la distribución del ciclo celular, apoptosis, activación de caspasas y vías de endocitosis. CUR y RSV alcanzaron su punto máximo en el tejido mamario 6 minutos después de la administración intravenosa de EXO-CUR y EXO-RSV, pero no en las mismas concentraciones equivalentes de (poli)fenoles libres. Concentraciones nanomolares de EXO-CUR o EXO-RSV, pero no de CUR o RSV libres, ejercieron un potente efecto antiproliferativo en las células cancerosas sin afectar a las células normales. Se observó una alteración significativa ($p < 0,05$) en el ciclo celular y actividad proapoptótica (a través de la vía mitocondrial). EXO-CUR y EXO-RSV entraron principalmente en las células a través de la ruta de endocitosis mediada por clatrina, evitando los transportadores de la proteína de unión a ATP (ABC). Los EXOs de leche protegieron a CUR y RSV del metabolismo y vehiculizaron ambos (poli)fenoles al tejido mamario en concentraciones compatibles con los efectos anticancerígenos rápidos y potentes ejercidos en los modelos celulares. Los EXOs de leche mejoraron la biodisponibilidad y la actividad anticancerígena de CUR y RSV escapando de la quimiorresistencia mediada por los transportadores ABC de células cancerosas.

CAPÍTULO 10

DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

La relación causa-efecto entre el consumo de (poli)fenoles y la mejora en la salud sólo ha podido establecerse de forma inequívoca para los flavan-3-oles del cacao (mejora de la función endotelial) y los fenoles del aceite de oliva (prevención de la oxidación de LDLc) (EFSA, 2011; 2012). Por tanto, esta causa-efecto no ha podido demostrarse para la mayoría de los (poli)fenoles de la dieta porque aún se desconocen los compuesto(s) y/o los metabolitos finales responsables de los efectos saludables asociados al consumo de la mayoría de (poli)fenoles. Otro de los principales motivos que ha impedido establecer dicha relación causa-efecto es la gran variabilidad interindividual que existe en el metabolismo de (poli)fenoles, donde la microbiota intestinal parece jugar un papel decisivo.

Por ello, las investigaciones incluidas en la presente Tesis Doctoral han intentado contribuir a la identificación de los principales responsables de la variabilidad interindividual en los efectos de los (poli)fenoles en la salud, así como al desarrollo de posibles estrategias que puedan explicar y/o mejorar dichos efectos. Así, en esta Tesis se ha avanzado y profundizado en el estudio de la variabilidad interindividual asociada con el metabolismo de (poli)fenoles, además de en el desarrollo de estrategias para implementar en relación a su metabolismo, biodisponibilidad y transporte, abordando esta temática como sigue:

10.1 Variabilidad interindividual en el metabolismo de (poli)fenoles por la microbiota intestinal y su relación con la salud

Los metabolitos microbianos específicos producidos a partir de los (poli)fenoles, así como la ecología microbiana intestinal asociada con su metabolismo, podrían ser, al menos en parte, los responsables de los efectos saludables observados tras consumo de (poli)fenoles de la dieta (Cerdá et al., 2005; Espín et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2020a). Aún no se conoce del todo si estos efectos se ejercen fundamentalmente en el tracto gastrointestinal y se proyectan de forma sistémica por cascadas de señalización, o es necesaria la presencia física de metabolitos que interaccionen con las dianas sistémicas, o si son efectos indirectos producidos por la modulación de la microbiota intestinal, o quizá intervienen todas estas posibilidades (**Capítulo 3**).

Aunque algunos estudios han encontrado asociaciones estadísticas entre la presencia de metabolitos circulantes en sangre y los efectos agudos observados tras consumo de (poli)fenoles (Istas et al., 2018), estas asociaciones pueden ser simplemente casuales y suelen desaparecer en estudios a largo plazo por el concurso de numerosas variables, incluida la variabilidad interindividual (**Capítulo 3**; Cortés-Martín et al., 2020a). Por ello, para poder explicar esta variabilidad e intentar establecer una causalidad entre la ecología microbiana, los metabolitos y sus efectos en la salud, además de estudios de intervención aleatorizados, cruzados y controlados con placebo, es deseable la agrupación de los participantes según sus metabotipos de (poli)fenoles (perfil de metabolitos y microbiota asociada) (**Capítulo 3**).

La potencial actividad neuroprotectora de los ETs y/o sus metabolitos UROs es un ejemplo ilustrativo de lo complicado que resulta establecer la relación causal entre (poli)fenoles y salud (**Capítulo 9.1**). Hasta la fecha, y en un contexto más bien farmacológico, existe una evidencia consistente, en animales, entre la administración de Uro-A sintética y neuroprotección (Gong et al., 2022; Liu et al., 2022b; Qiu et al., 2022). Estos hallazgos introducen otro aspecto relevante ya comentado (**Capítulo 3**): evaluar cómo de necesaria es la presencia física o no de metabolitos interaccionando con la diana sistémica, en este caso, la llegada de Uro-A al parénquima cerebral. La presencia de la forma más bioactiva de Uro-A (forma libre), en concentraciones relevantes (bajo micromolar), y también dos isómeros sulfatos, pero no los glucurónidos, ha sido descrita muy recientemente en cerebro perfundido de ratones (Jiménez-Loygorri et al., 2023). Esto es relevante pues hasta la fecha, los estudios previos en animales no perfundían el cerebro (y lo detectado podría estar en la sangre residual del órgano), y/o trataban las muestras cerebrales con un cóctel de enzimas glucuronidasas y sulfatasas y, por tanto, se hidrolizaban los posibles conjugados de fase-II y no se sabía cuál era el perfil metabólico real que atravesaba la barrera hematoencefálica (**Capítulo 9.1**). Así, Uro-A, ejerce actividad mitofágica en cerebro de ratones envejecidos, activando la ruta cGAS/STING, con la subsiguiente disminución de neuroinflamación y mejora del deterioro de la función neurológica, siendo esta una posible evidencia que respalda la presencia de metabolitos para interaccionar directamente con dianas sistémicas (**Capítulos 3 y 9.1**; Jiménez-Loygorri et al., 2023).

En humanos, la evidencia también sugiere una mejor salud cerebral después de consumir alimentos ricos en ETs, principalmente de la granada, que contienen

punicalagina, punicalina y diferentes derivados del EA (Bookheimer et al., 2013; Ropacki et al., 2013; Belcaro et al., 2018; Liu et al., 2018; Bellone et al., 2019; Matthews et al., 2019; Siddarth et al., 2020), pero no existen estudios sobre otros ETs. No obstante, aunque los ETs de la granada parecen ser actores necesarios en los efectos neuroprotectores descritos, se desconoce si contribuyen directamente a estos efectos o su efecto se realiza por diferentes mecanismos indirectos, como podría ser la llegada de Uro-A al cerebro, como se ha sugerido anteriormente (**Capítulo 9.1**). No obstante, aún no se ha podido establecer la cantidad mínima de alimentos ricos en ETs que aporten la dosis necesaria de estos (poli)fenoles, ni el tiempo de consumo o la mejor matriz que los contiene, para ejercer efectos neuroprotectores (**Capítulo 9.1**).

Como se comentaba anteriormente, la actividad biológica de los (poli)fenoles podría deberse, de forma indirecta, a su interacción con la microbiota intestinal (**Capítulo 3**), también en el contexto de neuroprotección (**Capítulo 9.1**), bien por el perfil de metabolitos producidos, en función de la singularidad de la microbiota asociada al metabolismo de cada (poli)fenol, originando diferentes metabotipos y/o por la propia modulación de la microbiota intestinal (**Capítulos 3 y 9.1**). Por ello, si la presencia de Uro-A en cerebro fuera imprescindible para observar efectos neuroprotectores tras la ingesta de ETs, se hace más necesaria la discusión sobre la contribución diferencial de los metabolitos microbianos de los (poli)fenoles o de la microbiota asociada a su producción (**Capítulo 3**). La presente Tesis Doctoral ha contribuido en este aspecto al describir dos nuevos metabolitos microbianos, la Uro-G y el 4-hidroxidibencilo (4HDB), derivados del metabolismo microbiano de los ETs y RSV, respectivamente. La Uro-G sólo se encontró en los metabotipos productores de UROs (UMA y UMB) por lo que ambos

metabotipos se beneficiarían de sus potenciales efectos a diferencia del metabotipo no productor (UM0) (**Capítulo 6**, Figura 3). El 4HDB, se encontró en muestras de orina hidrolizadas, pero no en heces, de personas tras consumir RSV. Esto se debió, posiblemente, a su rápida absorción y excreción, además de que no se pudieron detectar sus formas conjugadas en orina, quizá debido a sus bajas concentraciones y/o baja respuesta de ionización (**Capítulo 4**, Figura 3). Cabe destacar que el 4HDB fue un metabolito encontrado solo en individuos productores de LUNU. Se confirmó, tanto *in vivo* como *in vitro*, que el paso más favorecido en el metabolismo de RSV fue la reducción enzimática del doble enlace en el núcleo 4-estirilfenol de RSV (**Capítulo 4**, Figura 4). En contraste, los resultados sugieren que la actividad deshidroxilasa de la microbiota intestinal humana es específica, según posición de grupos hidroxilo y estructura de cada (poli)fenol, como es el caso de estilbenos y dibencilos (**Capítulo 4**; González-Sarriás et al., 2022), algo que también se ha visto para otros compuestos como ácidos biliares, otros (poli)fenoles y sus metabolitos microbianos (Selma et al., 2009; Funabashi et al., 2020; García-Villalba et al., 2020).

Estos resultados suponen un paso importante hacia una mayor comprensión sobre las moléculas producidas por la microbiota intestinal a partir de RSV y sus diferentes efectos biológicos, lo que podría contribuir a explicar la falta de consenso sobre los efectos en la salud de RSV (Tomé-Carneiro et al., 2013a; Pezzuto, 2019). El metabolismo microbiano de los estilbenos y las estructuras moleculares de los metabolitos derivados puede afectar a sus efectos biológicos, como pone de manifiesto un estudio pionero que comparó la relación entre la estructura de estilbenos y dibencilos, incluyendo RSV y sus metabolitos microbianos como el 4HDB, y su actividad antiproliferativa en células de

cáncer colorrectal, observándose que la actividad antiproliferativa disminuyó cuando los estilbenos eran reducidos, y según el número de grupos hidroxilos de la molécula (González-Sarrías et al., 2022). Todo esto sugiere que los estilbenos, incluido RSV, son metabolizados por la microbiota intestinal buscando su desactivación como potenciales xenobióticos dañinos, afectando de forma colateral a la posible actividad beneficiosa para la salud del huésped. De esta forma, entre otras actividad biológicas, el metabolismo de la microbiota intestinal puede condicionar la actividad antiproliferativa de los estilbenos, implicando que el consumo de RSV pueda tener efectos diferentes en los individuos dependiendo de la capacidad metabólica de su microbiota intestinal y el perfil de metabolitos resultante.

Para explorar si existían distintos metabotipos de la microbiota intestinal asociados al metabolismo de RSV, en esta Tesis Doctoral se llevó a cabo un estudio de intervención en un grupo de voluntarios adultos (n=195) (**Capítulo 5**). Se identificaron 2 nuevos metabotipos asociados con el metabolismo microbiano de RSV: los productores (LP) y no productores de LUNU (LNP). Los metabotipos de UROs y equol, los únicos identificados hasta la realización de esta Tesis, se han caracterizado en grandes cohortes y son resultado de la presencia de microorganismos específicos con maquinaria enzimática capaz de catalizar reacciones características en los (poli)fenoles (Maruo et al., 2008; Jin et al., 2010; Selma et al., 2014b; Frankenfeld, 2017; Beltrán et al., 2018; Cortés-Martín et al., 2020a). Esto depende de diversos factores como el tipo, número y posición de grupos funcionales, estereoisomerismo y grado de polimerización (Selma et al., 2009; Stevens & Maier, 2016; Maini et al., 2020).

En nuestro estudio, los LP se distinguieron por la capacidad de su microbiota intestinal de deshidroxilar estilbenos y dibencilos en posiciones específicas (3 y 5), produciendo varios metabolitos derivados de la microbiota intestinal a partir de RSV, algo que no se observó en los LNP que carecieron de esta actividad deshidroxilasa y sólo produjeron un subconjunto de estos metabolitos. Por tanto, estas serían características intrínsecas de los individuos, no afectadas directamente por factores externos, concordando con el concepto de metabotipo de (poli)fenoles asociado con la microbiota intestinal (**Capítulo 3**; Espín et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2020a).

Los metabolitos detectados en los individuos LP fueron DHRSV, DHST, LUNU y sus conjugados, además de 4HDB (**Capítulo 5**, Figura 1). Se confirmó la producción del metabolito 4HDB sólo en los productores de LUNU y la no formación de otros posibles metabolitos (3HDB, 4HST, etc.), lo cual aporta información sobre cuáles son los metabolitos que deberían ensayarse en modelos preclínicos (**Capítulos 4 y 5**; Ávila-Gálvez et al. 2018). Los perfiles metabólicos en ambos metabotipos de RSV se encontraron de manera consistente en los voluntarios y fueron confirmados *in vitro* mediante incubaciones fecales, usando diferentes precursores potenciales de la ruta metabólica hasta configurar la presentada en esta Tesis (**Capítulos 5**, Figura 4). No se observó una conversión completa de LUNU a 4HDB, por lo que LUNU es un biomarcador válido para la estratificación de los voluntarios en estos metabotipos, debido a su mayor abundancia en las muestras y su más sencilla determinación (**Capítulo 4**).

En cuanto a la distribución de estos metabotipos en la población estudiada, no hubo ninguna asociación con respecto al IMC o edad. Sin embargo, se observaron diferencias en relación al sexo en el grupo LNP pero dependiendo de la ubicación geográfica de los

individuos, posiblemente influido por el mayor número de participantes femeninas en una de las ubicaciones, si bien este resultado requiere investigaciones futuras para ser confirmado (**Capítulo 5**, Figura S1A y S1B). En cambio, en los UMs, la edad es el principal factor que afecta la distribución de estos metabotipos, pero no se han asociado de manera concluyente con otras características (Cortés-Martín et al., 2018, 2020a). En contraste, en el caso de metabotipos de equol (y de la producción de ODMA), no se han encontrado asociaciones claras para ninguna variable (dieta, edad, valores antropométricos, raza, etc.), aunque sí una consistente mayor producción de equol en poblaciones orientales (Frankenfeld, 2017)

También se ha identificado un gradiente de producción de LUNU, desde bajo- hasta alto-productores (**Capítulos 5**, Figura 5), característica común en el metabolismo de la mayoría de (poli)fenoles por la microbiota intestinal, directamente influenciado por factores externos como el patrón dietético, la matriz alimentaria, dosis ingeridas, etc. (**Capítulo 3**; Cortés-Martín et al., 2019a, 2020a). Finalmente, se confirmó la falta de actividad deshidroxilasa de la microbiota intestinal en la posición 4 o 4' en dibencilos y estilbenos, y la actividad reductora específica del 4-estirilfenol presente en ambos metabotipos. Esta actividad reductora probablemente es la reacción primera y más universal en el catabolismo de los (poli)fenoles por parte de la microbiota intestinal (**Capítulos 4 y 5**; Selma et al., 2009; Jarosova et al., 2019).

En cuanto a los ácidos fenólicos que han sido relacionados con el metabolismo de RSV (Wang et al., 2020), nuestros resultados sugieren que la producción de estos metabolitos no es una característica distintiva del metabolismo de RSV, sino más bien son productos finales comunes en la degradación de la mayoría de (poli)fenoles, como

se ha descrito anteriormente (**Capítulos 3 y 5**; Kay et al., 2017; Cortés-Martín et al., 2020a; Kerimi et al., 2020).

La estratificación de los individuos en estos metabotipos de RSV será crucial para entender la variabilidad interindividual en los efectos en la salud asociados al consumo de RSV, ya que la actividad biológica de los metabolitos derivados de la microbiota puede diferir de la de RSV, como se observó en el estudio *in vitro* mencionado anteriormente (González-Sarrías et al., 2022). Otros estudios recientes han descrito estas diferencias, observándose actividades biológicas bajas para DHRSV y LUNU (Pallauf et al., 2019; Günther et al., 2020), pero, por otro lado, una alta actividad anticancerígena y anti-inflamatoria *in vitro* (Li et al., 2022), si bien esto también podría deberse a los diferentes modelos y/o condiciones ensayadas (Ávila-Gálvez et al., 2018).

En general, lo anterior pone de manifiesto la importancia de la personalización de metabotipos con el objetivo de estandarizar el efecto de algunos (poli)fenoles, garantizando la producción de los metabolitos con actividad biológica relevante para la salud. En la siguiente sección, se abordará el caso particular de las UROs, mediante la replicación *in vitro* del metabolismo microbiano de las UROs característico de UMA y UMB, así como la reproducción de estos perfiles en roedores no productores tras la administración de los consorcios bacterianos identificados para ambos UMs.

Los resultados obtenidos en la presente Tesis evidencian que cada individuo tiene una capacidad metabólica propia para cada tipo de (poli)fenol consumido pudiendo asociarse así con distintos metabotipos. Por este motivo, a continuación, hipotetizamos sobre la existencia de diferentes agrupaciones o clústeres de los metabotipos de (poli)fenoles existentes en la población dando lugar a una miscelánea de perfiles

metabólicos en los individuos según la capacidad de su microbiota intestinal para metabolizar estos compuestos (**Capítulo 9.2**). Concretamente, en esta Tesis exploramos la presencia de diferentes clústeres (MCs) de los metabotipos de isoflavonas, ETs y RSV, además de su prevalencia en la población, la microbiota intestinal asociada y las redes microbianas distintivas en un grupo de voluntarios adultos caucásicos no medicados (**Capítulo 9.2**, Tabla 1).

Los resultados indican que los efectos de los (poli)fenoles en la salud no deben investigarse como si todos los individuos se comportaran como un grupo homogéneo que va a reaccionar uniformemente a las intervenciones dietéticas ricas en estos compuestos. La distribución de los distintos metabotipos de forma individual fue muy similar a la previamente descrita por otros estudios en adultos (30% EP, 70% ENP para daidzeína; 50% UMB, 40% UMA y 10% UMO para ETs y; 75% LP y 25% LNP para RSV) (**Capítulo 5**; Frankenfeld, 2017; Cortés-Martín et al., 2018;). Pero estos metabotipos realmente no se presentan de forma individualizada. Así, identificamos la coexistencia de 10 MCs, donde la mayoría de los voluntarios (aproximadamente el 90%) se encontraron dentro de 5 de ellos (**Capítulo 9.2**, Tabla 2). Observamos que covariables como sexo, edad o IMC no afectaron en la distribución de los metabotipos o MCs de la población estudiada. El orden de los MC mayoritarios encontrados fue de 22.7% (LP+UMB+ENP), 21.3% (LP+UMA+ENP), 16.7% (LP+UMA+EP), 16% (LP+UMB+EP) y 11.3% (LNP+UMA+ENP) (**Capítulo 9.2**, Tabla 2). Casi la mitad de los voluntarios (44%) presentaron el mismo metabotipo para dos de los (poli)fenoles (LP y ENP), pero se diferenciaron en cuanto a los UMs (UMA o UMB). Además, no encontramos una producción diferencial en ODMA como se había descrito anteriormente (Frankenfeld, et

al., 2022), por lo que no fue considerado como criterio en la agrupación de los MCs (todos los individuos produjeron ODMA). También, se observó un gradiente de producción de los metabolitos en cada MCs (**Capítulo 9.2**, Figura SA2), lo que no afectó a la composición microbiana diferencial en los metabotipos, pero podría contribuir a la variabilidad interindividual de los efectos en la salud tras consumo de (poli)fenoles (**Capítulo 3**).

En cuanto a la composición de la microbiota intestinal, se han identificado 28 géneros microbianos intestinales asociados de manera diferencial ($FDR < 0.05$) con los cinco MCs mayoritarios considerados finalmente (**Capítulo 9.2**, Figura 2B), pues el número de individuos con MCs menos prevalentes impedía estudios estadísticos multivariantes restrictivos como el aplicado en esta Tesis. Nuestros resultados confirman la presencia de taxones intestinales asociados específicamente con los UMs de manera individual (Romo-Vaquero et al., 2019). Por ejemplo, *Gordonibacter*, *Eggerthella* y *Adlercreutzia* fueron prevalentes en UMA, mientras que *Senegalimassilia*, *Methanobrevibacter*, *Slackia*, *Collinsella* y *Holdemanella* predominaron en UMB (**Capítulo 9.2**, Figura 2A). Sin embargo, no encontramos otros taxones asociados con metabotipos específicos, como *Ellagibacter urolithinifaciens* en UMs, y *Adlercreutzia equolifaciens* en los metabotipos de equol, etc., posiblemente debido al análisis multivariante restrictivo utilizado, la baja abundancia de estos taxones, y/o las covariables utilizadas como posibles factores de confusión en el análisis.

El MC3 (LP+UMA+EP) se destacó por presentar el mayor número de géneros microbianos asociados de manera diferencial respecto a otros MCs (**Capítulo 9.2**, Figura 2B). Además, la combinación de metabolitos y/o la ecología microbiana específica de

este MC podrían explicar el alto número de funciones correlacionadas positivamente (**Capítulo 9.2**, Figura 4B) (Hazim et al., 2016; González-Sarrías et al., 2017b; Cortés-Martín et al., 2020a; García-Villalba et al., 2022). Por ejemplo, se ha vinculado a *Christensenella* con efectos antidepresivos (Coello et al., 2021), y a *Akkermansia*, un microorganismo intestinal bien conocido por reducir los niveles de marcadores sanguíneos relacionados con la disfunción hepática y la inflamación en humanos (Depommier et al., 2019). Sin embargo, es difícil atribuir efectos beneficiosos o perjudiciales de forma inequívoca con una caracterización a nivel de género y basándose en asociaciones para algunos microorganismos, como en el caso de *Veillonella*, característico de LNP, menos común en MC3 y que tiene la mayoría de las rutas funcionales asociadas inversamente (**Capítulo 9.2**, Figs. 2B, 4B) (Scheiman et al., 2019; Gao et al., 2021). La asociación consistente y positiva entre las rutas de biosíntesis de leucina e isoleucina y UMA (y negativa para UMB; **Capítulo 9.2**, Figs. 2A y 4A) y sus géneros microbianos asociados de manera diferencial, podrían respaldar el potencial papel de Uro-A descrito para el rendimiento muscular (Singh et al., 2022a).

En relación a la modulación de la microbiota intestinal después del consumo del nutracéutico ensayado en la presente Tesis, hemos observado principalmente una disminución en la abundancia relativa de géneros microbianos intestinales y las alfa y beta diversidad, posiblemente debido a la conocida actividad antibacteriana de los (poli)fenoles (**Capítulo 9.2**, Figs. 5, 6). Esto respalda lo sugerido anteriormente en relación a que el catabolismo de (poli)fenoles por la microbiota intestinal, como mecanismo de defensa para desactivar su actividad antimicrobiana, también, salvo excepciones, redundaría en un menor efecto saludable para el huésped (**Capítulo 5**). Estos

resultados de reducción de la diversidad por consumo de (poli)fenoles están en consonancia con los de otros estudios (Simpson et al., 2022). No obstante, también se ha descrito que el consumo de (poli)fenoles puede aumentar la diversidad de la microbiota intestinal (Haudum et al., 2020), pero esto podría depender del estado de salud de los individuos y de la matriz de los alimentos (Cheng et al., 2023)

La modulación de la composición bacteriana tras consumo del nutraceutico no se observó en MC3 (**Capítulo 9.2**, Figura 5), posiblemente debido a la presencia de una microbiota intestinal más robusta, resistente a ser modificada por la dieta (Zhang et al., 2016; Barber et al., 2021). En general, la presencia simultánea de estas diferentes combinaciones de metabotipos en la población, podrían explicar, al menos en parte, la variabilidad interindividual observada en los efectos de los (poli)fenoles y su relación con la microbiota intestinal comentada anteriormente (**Capítulo 3**).

También, esta Tesis ha abordado por primera vez el análisis topológico de las redes del microbioma intestinal asociadas con el metabolismo de (poli)fenoles, un tipo de análisis que puede ir más allá de las diferencias en las abundancias relativas de los microorganismos, evaluar la estabilidad de los microbiomas intestinales y sus posibles diferencias entre los estados de salud y enfermedad (**Capítulo 9.2**; Nagy-Szakal et al., 2017; Huang et al., 2022; Wallen et al., 2022).

Nuestros resultados sobre topología de redes mostraron también la robustez del MC3, ya que fue el único MC sin pérdida de nodos después del consumo del nutraceutico (Jing et al., 2021) (**Capítulo 9.2**, Figura SA5). Además, aunque en MC3 el nutraceutico no modificó la abundancia relativa de los géneros microbianos intestinales (**Capítulo 9.2**, Figura 5), promovió significativamente la comunicación entre módulos en este MC

(**Capítulo 9.2**, Figura 7), sugiriendo que el consumo de (poli)fenoles, aun sin modular la composición de la microbiota intestinal, puede afectar la ecología de la red microbiana incluso en aquellos microbiomas intestinales robustos. Por tanto, el consumo del nutracéutico aumentó la conexión entre taxones relevantes en MC3 (**Capítulo 9.2**, Figura SA8), que podrían desempeñar un papel esencial en la estructuración de la ecología microbiana (Zhou et al., 2010).

Finalmente, los resultados recogidos en este primer bloque temático (10.1) sugieren la necesidad de establecer estrategias personalizadas, primero agrupando a los individuos según sea la coexistencia de los diferentes metabotipos de (poli)fenoles, y segundo, considerando la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal junto la topología de sus redes de forma singular. Todo esto ayudaría a dilucidar de manera más precisa los efectos en la salud de los (poli)fenoles y la implicación que tiene en ellos la microbiota intestinal de los individuos, ayudando al diseño de estrategias nutricionales personalizadas más eficaces que potenciarán los efectos saludables de los (poli)fenoles.

10.2 Personalización de metabotipos de urolitinas.

Como se ha discutido en la sección anterior, poder personalizar y uniformizar los metabotipos de los individuos es indispensable para que el consumo de (poli)fenoles tenga un impacto por igual en la salud de la población, y que estos efectos no se vean mermados por la falta de alguna actividad enzimática de la microbiota, necesaria para la producción de metabolitos bioactivos específicos. En este sentido, uno de los

objetivos de esta Tesis Doctoral fue investigar la posible personalización de los metabotipos productores de UROs (UMA y UMB), mediante el uso de potenciales probióticos.

Para ello, utilizando diferentes UROs intermediarias como sustrato, se investigó la capacidad metabólica de especies de los géneros bacterianos *Gordonibacter* y *Ellagibacter* conocidos por su implicación en la producción de algunas UROs. Además, se aislaron nuevas cepas bacterianas intestinales capaces de producir el resto de UROs. Así se identificó y caracterizó una nueva cepa, *Enterocloster bolteae* CEBAS S4A9, capaz de producir distintas UROs incluidas las UROs finales (Uro-A y Uro-B) a partir de UROs intermediarias y se comparó su actividad con la de otras especies representativas del mismo género bacteriano.

Diversos estudios han descrito la capacidad de los géneros *Gordonibacter* y *Ellagibacter*, característicos de UMA y UMB, respectivamente, de metabolizar EA y producir diversas UROs intermediarias (Selma et al., 2014a, 2014b, 2017; Beltrán et al., 2018; Romo-Vaquero et al., 2019). Ambos géneros bacterianos presentaron actividades 4 y 10 deshidroxilasa, respectivamente (**Capítulo 6**, Tabla 1 y Figura 4). Sin embargo, las cepas utilizadas de estos géneros no fueron capaces de realizar las deshidroxilaciones necesarias para producir Uro-A o Uro-B. En cambio, la nueva bacteria aislada, *E. bolteae* CEBAS S4A9, sí presentaba la actividad 9 deshidroxilasa necesaria para producir las UROs finales Uro-A y Uro-B, a partir de otras UROs intermediarias. La identificación taxonómica de esta nueva cepa aislada de *E. bolteae* fue posible mediante la secuenciación del gen 16S ARNr. Aunque los resultados han demostrado la producción de Uro-A y Uro-B por parte de la cepa aislada *E. bolteae* CEBAS S4A9 y sus especies más

cercanas (**Capítulo 6**, Tabla 1), ninguna de estas cepas de *Enterocloster* fue capaz de metabolizar EA hasta UROs intermediarias. Por tanto, a diferencia de *Gordonibacter* y *Ellagibacter*, el género *Enterocloster* no posee la actividad lactonasa y descarboxilasa necesaria para convertir EA en Uro-M5. Esto indica que el catabolismo de EA a UROs es compartido por géneros pertenecientes a dos familias distantes filogenéticamente como son *Eggerthellaceae* y *Lachnospiraceae*. La incubación de Uro-D con distintas cepas de *Enterocloster* permitió identificar una nueva Uro a la que dimos el nombre de Uro-G, descrita por primera vez en esta Tesis (**Capítulo 6**). La actividad 9-deshidroxilasa presente en esta bacteria respalda que se trate de la 3,4,8-trihidroxi-urolitina, algo confirmado recientemente mediante estudios de resonancia magnética nuclear (Beltrán et al., 2023).

A continuación, se ensayaron 2 combinaciones de bacterias (*G. urolithinifaciens* DSM 27213T + *E. bolteae* CEBAS S4A9 y *E. isourolithinifaciens* DSM 104140T + *E. bolteae* CEBAS S4A9) que se han patentado (Selma et al., 2022), confirmando su capacidad de reproducir en cultivo los perfiles de UROs característicos de UMA y UMB, respectivamente (**Capítulo 6**, Figura 3). El consorcio bacteriano que fue capaz de producir las UROs del UMA incluía las cepas *G. urolithinifaciens* DSM 27213T y *E. bolteae* CEBAS S4A9, mientras que la combinación capaz de producir las UROs de UMB, contenía las cepas *E. isourolithinifaciens* DSM 104140T y *E. bolteae* CEBAS S4A9, replicando así *in vitro* los perfiles metabólicos para ambos UMs. Los resultados de las incubaciones de estos cultivos puros concordaron con los perfiles metabólicos de UROs de UMA y UMB descritos en diversos estudios anteriores en humanos o con cultivos fecales (Tomás-Barberán et al. 2014; Romo-Vaquero et al., 2015; Cortés-Martín et al. 2018; García-

Villalba et al., 2016, 2017, 2019; Xian et al., 2021). Por tanto, en la presente Tesis se describen por primera vez las bacterias potencialmente implicadas en cada uno de los pasos de la ruta metabólica de UROs, además de la presencia de la Uro-G como metabolito intermedio común a ambos UMs (**Capítulo 6**).

Como se anticipaba en la **sección 10.1**, la posible personalización de los metabotipos, con el fin de uniformizar los efectos saludables de metabolitos específicos, es aún una tarea pendiente para que la población en general pueda beneficiarse de los efectos biológicos de los metabolitos microbianos bioactivos de (poli)fenoles. Por este motivo, a continuación, investigamos por primera vez la viabilidad de la administración de los consorcios bacterianos implicados en el metabolismo de las UROs (**Capítulo 6**) a ratas Wistar no productoras de UROs (**Capítulo 7**). Tras la administración de estos consorcios, se comprobó que las bacterias ingeridas fueron capaces de llegar al intestino, debido al aumento en su abundancia en heces, además de lograr por primera vez la reproducción exitosa *in vivo* de los perfiles de producción de UROs de ambos UMs (UMA y UMB) (**Capítulo 7**, Figura 3A y 3B). El desarrollo y optimización de métodos rápidos de detección y cuantificación de *Ellagibacter* y *Enterocloster* en muestras fecales mediante qPCR que se describen en la presente Tesis pueden ser una herramienta útil y menos costosa que la secuenciación masiva para determinar la presencia de estos géneros bacterianos implicados en la producción de UROs.

En la replicación de UMB, se observó una mayor producción de Uro-A en comparación con IsoUro-A o Uro-B. Un estudio reciente con ratones libres de gérmenes utilizando un enfoque diferente, ya que administraron trasplantes fecales, confirmó también este patrón de producción (Xian et al., 2022). Nuestros resultados indican que

el consumo de consorcios bacterianos específicos para cada UM (Grupo A: *Gordonibacter + Enterocloster*; Grupo B: *Ellagibacter + Enterocloster*) es suficiente para colonizar a un modelo de rata no productor (UM0) y reproducir el perfil metabólico de UROs, mientras que el consumo continuado de EA no es suficiente para convertir a estas ratas no productoras en productoras de UROs, coincidiendo con estudios anteriores donde tampoco hubo conversión de UM0 tras el consumo de fuentes ricas en EA (González-Sarriás et al., 2017b; Cortés-Martín et al., 2021)

La matriz del alimento tuvo un papel importante en la accesibilidad de las bacterias intestinales al EA, y por tanto, a la capacidad de estas para producir UROs, ya que cuando se complementó el consumo de extracto de EA con nueces, ricas en ETs, la concentración de EA y UROs aumentó significativamente, algo que se ha observado previamente en otros estudios en humanos (Romo-Vaquero et al., 2015; Long et al., 2019), y que además no se observó en el grupo control que no consumió los consorcios microbianos (**Capítulo 7**, Figura 3C). Además, la administración oral continua de estos consorcios bacterianos durante 1 mes fue segura, ya que no se observaron efectos adversos en la bioquímica sanguínea o una modulación negativa de otros grupos bacterianos (**Capítulo 7**, Tablas 2, 3 y Figura 4). Estudios futuros deberán confirmar estos resultados, además del perfil de seguridad y el impacto del consumo de estos consorcios de bacterias en la salud del huésped antes de poderlas considerar como posibles probióticos para personalizar los UMs en seres humanos.

Sin embargo, a pesar de estos avances, sería adecuado considerar una aproximación más holística, que tenga en cuenta la coexistencia de los clústeres de metabotipos en los individuos, como se ha comentado anteriormente (**sección 10.1; Capítulo 9.2**). Lo

ideal sería seguir investigando los microorganismos intestinales implicados en las transformaciones de los (poli)fenoles hasta los metabolitos bioactivos característicos de los diferentes metabotipos, no sólo de UROs, sino también de equol y LUNU. De esta forma, se ampliaría el uso de potenciales consorcios probióticos que pudieran modular el perfil metabólico, no solamente en relación al metabolismo de un único (poli)fenol, sino más bien extendiendo su modulación hacia otros (poli)fenoles. Igualmente, sería una línea de investigación futura el explorar postbióticos (**Capítulo 1**), es decir, bacterias inactivadas o partes de estas, procedentes de los consorcios bacterianos capaces de producir metabolitos microbianos de (poli)fenoles, para personalizar MCs en individuos, que es la situación que realmente ocurre en la población.

Po otro lado, como se discutirá en la siguiente sección, otra factor relevante a investigar, para poder optimizar el efecto biológicos de los (poli)fenoles, es su baja biodisponibilidad y metabolización en el organismo, siendo necesarias estrategias novedosas que preserven estos compuestos y sean capaces de transportarlos eficazmente dentro del organismo a los diferentes tejidos.

10.3 Biodisponibilidad y nuevas plataformas biológicas de transporte de (poli)fenoles y sus metabolitos.

Como se ha comentado anteriormente (**sección 10.1; Capítulo 3**), aún no están claros los actores principales en el binomio (poli)fenol-salud, algo condicionado por la variabilidad interindividual en su metabolismo, pero también por la baja biodisponibilidad de los (poli)fenoles. Por este motivo, es necesario explorar nuevas

formas de transporte de los (poli)fenoles y sus metabolitos en sus formas nativas y/o no conjugadas, protegiéndolos del metabolismo y poder distribuirlos en los tejidos diana para que lleguen en la forma y concentración necesaria para ejercer sus efectos.

Como se ha explicado en la Introducción (**Capítulo 1**), diversos estudios han detectado metabolitos de (poli)fenoles de fase-II en tejidos sistémicos, como la mama (Ávila-Gálvez et al., 2019, 2021b). Sin embargo, estos conjugados presentan menor actividad biológica que sus precursores no conjugados (**Capítulo 3**; Cortés-Martín et al., 2020a). Por ello, en esta Tesis Doctoral se ha explorado si los (poli)fenoles y/o sus metabolitos podrían ser transportados por EVs humanas, como posibles vehículos que podrían contribuir al transporte de estas moléculas por la circulación sanguínea hacia diferentes dianas sistémicas y/o como posibles mediadores de señales inducidas por los (poli)fenoles (López de Las Hazas et al., 2022; Figueira et al., 2023).

Estudios previos en humanos no fueron capaces de detectar metabolitos fenólicos en EXOs plasmáticos, hipotetizando que quizá el motivo fue el haber analizado las muestras tras ayuno nocturno de los voluntarios (Vallejo et al., 2019). Por ello, en esta Tesis se indagó más en este aspecto, mediante un estudio farmacocinético, con el propósito de detectar RSV y/o sus metabolitos derivados en las EVs y conocer su cinética de encapsulación tras el consumo de un extracto rico en RSV. Así, este estudio proporciona evidencia por primera vez sobre el transporte en la circulación sanguínea de metabolitos de RSV en EVs ricas en EXOs (E-EVs) aisladas del plasma (**Capítulo 8**). Los perfiles cinéticos de los metabolitos de RSV fueron bastante similares en el plasma y E-EVs, a pesar de la alta variabilidad interindividual observada, y no hubo diferencias significativas en los parámetros cinéticos de los metabolitos cuantificados (**Capítulo 8**,

Tabla 2 y Figura 3). Tampoco se detectaron moléculas de mayor peso molecular en las E-EVs plasmáticas, como diglucurónidos y sulfoglucurónidos, probablemente debido a que el tamaño molecular juega un papel importante en la encapsulación en E-EVs. La mayor concentración detectada en los E-EVs fue para los glucurónidos, mientras que en plasma fueron los sulfatos (**Capítulo 8**, Tabla 2 y Figura 3). Esto merece una mayor investigación en el futuro, explorando los posibles mecanismos asociados con la encapsulación diferencial de los glucurónidos y sulfatos de los (poli)fenoles en E-EVs. Un nuevo estudio en nuestro grupo, aún no publicado, avanza en este sentido, ya que se observó que después del consumo de isoflavonas, estos (poli)fenoles y sus metabolitos conjugados también son encapsulados y transportados en el plasma mediante E-EVs humanos.

En cuanto a los metabolitos microbianos de RSV, la concentración fue similar en plasma y E-EVs, especialmente en el caso de los glucurónidos, a diferencia de lo que pasó con los conjugados de RSV, que fueron detectados principalmente en plasma (**Capítulo 8**, Tabla S1 y Figura S1). Los resultados obtenidos plantean nuevas incógnitas que no han sido abordadas en los objetivos de la presente Tesis, como la identificación del origen de las E-EVs, si bien identificar su procedencia exacta es una tarea complicada (Keller et al., 2006). Aunque RSV llega al colon, donde es metabolizado por la microbiota intestinal (**Capítulos 4 y 5**; Azorín-Ortuño et al., 2011), no se detectaron RSV o sus metabolitos microbianos DHRSV y LUNU en forma libre en los E-EVs. Se podría especular que la mayoría de los E-EVs pudieron originarse en los enterocitos y hepatocitos, ya que solamente se detectaron derivados de fase-II de RSV y de sus metabolitos microbianos, aunque no se puede descartar una diferente eficiencia de encapsulación entre RSV libre

y sus conjugados, ya que nuestros resultados en otro estudio han descrito una encapsulación de RSV libre en EXOs de leche por difusión pasiva (**Capítulo 9.3**). Tampoco podemos descartar la posibilidad de que los metabolitos conjugados fueran accesibles para los microorganismos colónicos a través de la circulación enterohepática, pudiendo ser también encapsulados por EVs secretadas por la microbiota intestinal, algo que inicialmente se contempló investigar, pero tras estudios preliminares no logramos aislar EVs de heces humanas.

Debido a que es una temática de investigación reciente, sólo podemos comparar nuestro estudio con otro previo realizado en ratas que encontró cantidades traza de proantocianidinas y sus metabolitos en EVs aislados de plasma mediante kits de precipitación, presentando un perfil metabólico cualitativo idéntico entre plasma y EVs (Arola-Arnal et al., 2020). Sin embargo, cuando utilizaron la ultracentrifugación (UC) como método de aislamiento, apenas detectaron metabolitos en EVs, posiblemente debido a que los kits de precipitación pueden precipitar otras proteínas plasmáticas que se unen a los (poli)fenoles. Por estas razones, en nuestro estudio utilizamos la UC y analizamos los marcadores de EXOs y otras proteínas del plasma, lo que nos permitió concluir que las fracciones aisladas contenían E-EVs, pero no plasma residual.

Por otro lado, existe evidencia que sugiere que los (poli)fenoles pueden actuar en las vías de señalización que interfieren con la biogénesis de las EVs, reduciendo la producción de micropartículas endoteliales y derivadas de plaquetas (López Andrés et al., 2012; Horn et al., 2014). Además, se ha descrito el aumento de producción de EXOs en líneas celulares incubadas con CUR (Canfrán-Duque et al., 2014, 2015; García-Seisdedos et al., 2020). Nuestros resultados sugieren que el consumo crónico de RSV

podría promover la liberación de E-EVs, ya que se observó un aumento significativo en la cantidad producida de E-EVs 10 horas después del consumo de RSV (**Capítulo 8**, Figura 2B).

Por todo lo anterior, dado que las E-EVs pueden dirigirse a diferentes órganos y distribuir su carga de manera eficiente, estos resultados podrían proporcionar información relevante que ayude a aclarar aspectos sobre la biodisponibilidad de los (poli)fenoles y sus efectos en la salud, abordados en la **sección 10.1**, como la posible encapsulación de UROs en estas vesículas con la capacidad de liberar su carga en el cerebro, pudiendo de esta forma ejercer sus efectos neuroprotectores (**Capítulo 9.1**).

Teniendo en cuenta lo anterior, a continuación, se investigó el posible uso de exosomas derivados de leche bovina (EXOs-L) como vehículos para transportar y distribuir RSV y CUR en el organismo (**Capítulo 9.3**). Anteriormente, ya había sido investigado el uso de EXOs-L para la liberación dirigida de moléculas bioactivas, como ácidos nucleicos (Adriano et al., 2021). Se probaron 3 métodos diferentes para encapsular RSV y CUR en los EXOs-L, y se identificó la incubación pasiva como el método de carga más simple y efectivo. Así, hemos administrado EXOs-L cargados con curcumina (EXO-CUR) y RSV (EXO-RSV) a ratas para investigar la protección de estos compuestos del metabolismo y ser liberados en su forma nativa. Los resultados revelaron que esto es posible, ya que las formas libres de CUR y RSV se detectaron en el tejido mamario de las ratas, a pesar de que se administraron en bajas concentraciones, mientras que no se detectaron CUR y RSV libres al administrarlos sin encapsular en EXOs-L (**Capítulo 9.3**, Figura 2 y S2). No obstante, la administración de ambos (poli)fenoles en EXOs-L por vía

intravenosa es un primer paso que debe confirmarse con el consumo de EXOs-L por vía oral, algo que se está investigando actualmente en nuestro grupo.

Además, se exploró *in vitro* el efecto anticancerígeno ejercido por EXO-CUR y EXO-RSV. Se observaron efectos antiproliferativos potentes en modelos de células de cáncer de mama utilizando concentraciones nanomolares, cercanas a un contexto dietético (Ávila-Gálvez et al., 2019a, 2019b, 2021), y compatibles con las concentraciones detectadas en el tejido mamario de los animales (**Capítulo 9.3**, Figs. 3, 4 y 5). Se compararon los efectos al incubar las células con EXO-RSV y EXO-CUR, y también ambos (poli)fenoles sin encapsular. Los mecanismos antiproliferativos fueron similares para EXO-CUR y EXO-RSV, ambos aumentando la fase G₀/G₁ y disminuyeron la fase S en las células MCF-7, si bien la actividad antiproliferativa de EXO-CUR fue mucho más potente que la de EXO-RSV. En el caso de las células MCF-7, se ha descrito que concentraciones de CUR de 10-30 µM aumentan la fase G₂/M (Prasad et al., 2009; Berrak et al., 2016; Ávila-Gálvez et al., 2021), mientras que en el caso de RSV, se ha descrito el aumento en la fase S a concentraciones de 50 µM (Su et al., 2013), y aumento en S y G₂/M desde 10 µM (Giménez-Bastida et al., 2019). Sin embargo, hay que considerar que estos estudios previos ensayaron concentraciones mucho más altas de RSV y CUR sin encapsular, que las de nuestro estudio.

Además, tanto EXO-CUR como EXO-RSV indujeron apoptosis a través de la vía mitocondrial en células MCF-7 y MDA-MB-231, independientemente de la presencia de p53 (**Capítulo 9.3**, Figura 6). Este resultado es interesante, ya que otros estudios han señalado efectos dependientes de p53 al comparar la actividad de metabolitos de RSV en estas dos líneas celulares (Giménez-Bastida et al., 2019). Sin embargo, la proteína

p21, generalmente regulada por p53, puede también ser regulada independientemente por diversas moléculas, como CUR en las células MDA-MB-231 (Ávila-Gálvez et al., 2021b), por lo que, aunque no se analizó la proteína p21, es posible que EXO-CUR y EXO-RSV hubieran alterado el ciclo celular y promovido la apoptosis a través de su inducción, independientemente de p53.

Por otro lado, en nuestro estudio, EXO-CUR y EXO-RSV entraron en las células MCF-7 de forma independiente de los transportadores ABC, algo descrito por primera vez y relevante, ya que estos transportadores son conocidos mecanismos implicados en la quimiorresistencia de diversos tipos de cánceres, incluido el de mama. Nuestros resultados son, por tanto, importantes porque los transportadores ABC sí intervienen en la entrada de RSV y CUR libres (Doyle et al., 1998; Giménez-Bastida et al., 2019), mientras que su encapsulación en EXOs lograron evitarlos, lo que podría ser una estrategia para su uso como terapia coadyuvante en el tratamiento de diversos cánceres. Mientras que RSV y CUR libres entran por transportadores ABC, en esta Tesis hemos observado que EXO-RSV y EXO-CUR usaron principalmente la endocitosis mediada por clatrina como ruta de entrada a la célula (**Capítulo 9.3**, Figura 8), en línea con estudios previos que emplearon EXOs-L en células de diversos tipos de cánceres (Wolf et al., 2015; Aqil et al., 2017).

Sin embargo, somos conscientes de varias limitaciones de estos resultados, ya que, aunque los EXOs fueron aislados e identificados de manera inequívoca mediante la detección de marcadores moleculares específicos de EXOs, otros subtipos de EVs podrían estar presentes en las fracciones aisladas. Además, los métodos y el proceso de encapsulación podrían optimizarse facilitando la liberación de concentraciones más

altas de (poli)fenoles al tejido mamario, y se podría rastrear la captación de los EXOs en células a tiempo real, diferenciando más precisamente las rutas involucradas mediante el marcaje selectivo de los EXOs-L, algo actualmente en investigación dentro del grupo.

También es interesante destacar que si consideramos la capacidad de los EXOs para cruzar la barrera hematoencefálica (Figueira et al., 2023), este tipo de abordaje puede tener una relevancia adicional en el contexto de la neuroprotección, al facilitar el paso al cerebro de ciertos (poli)fenoles y sus metabolitos con efecto neuroprotector como es el caso de las UROs, o bien posibilitando el paso de otros (EA, RSV, etc.) no detectados inequívocamente en cerebro hasta la fecha (**Capítulos 3 y 9.1**). Teniendo en cuenta estos resultados, la implicación de EVs en general, y EXOs en particular, en el transporte y distribución de otros (poli)fenoles y sus metabolitos microbianos y conjugados, es una estrategia que merece mayor investigación al poder ser utilizada para comprender y/o mejorar los efectos ejercidos por estos compuestos en la salud humana. De hecho, fruto de los resultados de la presente Tesis Doctoral, también se investiga actualmente en el grupo si los EXOs-L podrían vehiculizar diferentes (poli)fenoles y sus metabolitos hasta el cerebro, también tras consumo vía oral.

CAPÍTULO 11

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral han permitido obtener las siguientes conclusiones:

1º) Se describe el metabolismo microbiano de RSV más completo hasta la fecha. La microbiota intestinal es capaz de deshidroxilar la lunularina (LUNU) pero sólo en la posición 3 de la molécula, dando lugar a 4-hidroxidibenzilo (4HDB), metabolito microbiano descrito por primera vez tras la ingesta de *trans*-resveratrol (RSV). Sin embargo, la microbiota no puede deshidroxilar en posición 4' en estilbenos o dibencilos, originando un perfil diferente de metabolitos microbianos según los individuos que podría tener impacto en la salud tras consumir RSV.

2º) La microbiota de todos los individuos presenta actividad 4-estirilfenol reductasa que convierte los estilbenos en sus respectivos dibencilos. Por ello, la reducción de RSV hasta dihidroresveratrol (DHRSV) la pueden realizar todas las personas. Sin embargo, se pueden establecer metabotipos de la microbiota intestinal asociados con el metabolismo de RSV (productores de LUNU y no productores), pues sólo en el metabotipo productor de LUNU (aproximadamente el 75% de la población estudiada) el DHRSV es secuencialmente deshidroxilado en la posición 5, para producir LUNU, y después, en la posición 3, para producir 4HDB. Al igual que en el metabolismo del resto de (poli)fenoles, incluyendo otros metabotipos, en el metabotipo productor de LUNU existe un gradiente desde baja a alta producción de este metabolito en los individuos.

3º) Los metabotipos relacionados con (poli)fenoles (isoflavonas, EA y RSV) se presentan en agrupaciones o clústeres de metabotipos (MCs). Se han identificado diez, aunque el

90% de los individuos participantes se agrupan en cinco de ellos. El sexo, el índice de masa corporal y la edad no determinan la distribución de estos MCs en la población estudiada. Se ha realizado por primera vez un análisis topológico de redes de la microbiota intestinal asociado al metabolismo de (poli)fenoles. La composición, funcionalidad, alfa y beta-diversidad, la topología de las redes y la modulación de la microbiota intestinal tras el consumo de un nutraceutico rico en (poli)fenoles es distinta si se considera en conjunto a todos los participantes o según sus MCs. El nutraceutico no pudo modular la composición de la microbiota intestinal del tercer MC mayoritario, pero sí aumentó sus conectores en la red. Por ello, incluso sin una modulación de la microbiota evidente, los cambios en cómo interaccionan los diferentes grupos microbianos podrían contribuir a los efectos biológicos. Por ello, estos resultados sugieren la necesidad de establecer estrategias personalizadas, considerando la microbiota intestinal, para maximizar el efecto de los (poli)fenoles en la salud.

4º) *Enterocloster bolteae* cepa CEBAS S4A9 es una nueva bacteria intestinal capaz de producir las UROs finales Uro-A y Uro-B, así como diferentes intermediarios, como Uro-G, identificada por primera vez y común a ambos metabotipos productores de UROs (UMA y UMB). Además, dos co-cultivos bacterianos intestinales (*Gordonibacter urolithinifaciens* + *E. bolteae* CEBAS S4A9 y *Ellagibacter isourolithinifaciens* + *E. bolteae* CEBAS S4A9) son capaces por primera vez de reproducir *in vitro* las rutas catabólicas de UROs características de UMA y UMB, respectivamente.

5º) Las cepas bacterianas productoras de UROs colonizan eficazmente el intestino de ratas no productoras de UROs, transfiriendo esta capacidad productora a los animales,

replicando el perfil metabólico de los UMA y UMB, dependiendo del consorcio bacteriano administrado. Además, el análisis de seguridad realizado y la ausencia de efectos adversos sugiere que el uso de estas bacterias intestinales productoras de UROs es seguro. Por ello, estos consorcios bacterianos podrían tener potencial como nuevos probióticos, especialmente para individuos no productores de UROs (UM0). Además, también podrían ser usados como herramienta biotecnológica para la producción de UROs que pueden ser añadidas en alimentos funcionales y nutraceuticos.

6º) Los exosomas de leche (EXOs-L) son capaces de proteger la curcumina (CUR) y RSV de ser metabolizados y transportar a ambos (poli)fenoles al tejido mamario de ratas. Los EXOs-L aumentan la biodisponibilidad y la actividad anticancerígena de CUR y RSV entrando principalmente a las células vía endocitosis mediada por clatrina, y evitando mecanismos de quimiorresistencia como los transportadores ABC. Concentraciones nanomolares de EXO-CUR o EXO-RSV, compatibles con las detectadas en tejido mamario, pero no de CUR o RSV libre, son suficientes para producir un potente efecto antiproliferativo en células cancerosas de mama (alteración del ciclo e inducción de apoptosis vía mitocondrial) y sin afectar a las células normales. Por tanto, la encapsulación de (poli)fenoles y/o sus metabolitos en exosomas podría ser una herramienta efectiva para vehiculizar estos compuestos bioactivos a tejidos sistémicos y potenciar sus efectos.

7º) Se ha descrito por primera vez el transporte de metabolitos de (poli)fenoles en exosomas humanos, específicamente, metabolitos de RSV que también pueden ser transportados en la circulación sanguínea mediante vesículas extracelulares ricas en

exosomas (E-EVs). La ingesta de RSV estimula la secreción de E-EVs que encapsulan preferentemente glucurónidos, aunque la concentración de sulfatos en plasma sea mayor. Los perfiles farmacocinéticos de los metabolitos microbianos intestinales en plasma y en los E-EVs son similares. Aunque la concentración de metabolitos de fase-II de RSV en plasma es mucho más alta que en E-EVs, esta concentración en plasma y E-EVs es similar para los metabolitos microbianos.

En resumen, con esta Tesis Doctoral se ha avanzado en diferentes aspectos que contribuyen a comprender mejor la variabilidad interindividual asociada al metabolismo de (poli)fenoles, los metabotipos y la microbiota intestinal asociada. Esto podría ser relevante para definir nuevas estrategias para explicar y/o mejorar el efecto de estos compuestos fenólicos en la salud humana, como metabotipar a los individuos según sus clústeres de metabotipos (MCs), personalizar a la carta estos metabotipos y mejorar la biodisponibilidad y transporte en el organismo de (poli)fenoles y sus metabolitos mediante el uso de exosomas.

REFERENCIAS

- Aagaard, K., Ma, J., Antony, K. M., Ganu, R., Petrosino, J., & Versalovic, J. (2014). The placenta harbors a unique microbiome. *Science Translational Medicine*, 6(237), 237ra65. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>.
- Abiru, Y., Ueno, T., & Uchiyama, S. (2013). Isolation and characterization of novel S-equol-producing bacteria from brines of stinky tofu, a traditional fermented soy food in Taiwan. *International Journal Of Food Sciences And Nutrition*, 64(8), 936–943. <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.816936>
- Adam, A., Crespy, V., Levrat-Verny, M. A., Leenhardt, F., Leuillet, M., Demigné, C., & Rémésy, C. (2002). The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats. *The Journal Of Nutrition*, 132(7), 1962–1968. <https://doi.org/10.1093/jn/132.7.1962>
- Ader, P., Grenacher, B., Langguth, P., Scharrer, E., & Wolffram, S. (1996). Cinnamate uptake by rat small intestine: transport kinetics and transepithelial transfer. *Experimental Physiology*, 81(6), 943–955. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1996.sp003995>
- Adriano, B., Cotto, N. M., Chauhan, N., Jaggi, M., Chauhan, S. C., & Yallapu, M. M. (2021). Milk exosomes: Nature's abundant nanoplatfrom for theranostic applications. *Bioactive Materials*, 6(8), 2479–2490. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.01.009>
- Afzaal, M., Saeed, F., Shah, Y. A., Hussain, M., Rabail, R., Socol, C. T., Hassoun, A., Pateiro, M., Lorenzo, J. M., Rusu, A. V., & Aadil, R. M. (2022). Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship. *Frontiers In Microbiology*, 13, 999001. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.999001>
- Aguilar-Toalá, J. E., García-Varela, R., García, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Córdova, B., & Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends In Food Science & Technology*, 75, 105-114. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.009>
- Aguilar-Zarate, P., Cruz-Hernández, M. A., Montañez, J. C., Belmares-Cerda, R. E. & Aguilar, C. N. (2014). Bacterial tannases: production, properties and applications. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 13, 63-74
- Ahuja, V., Miura, K., Vishnu, A., Fujiyoshi, A., Evans, R., Zaid, M., Miyagawa, N., Hisamatsu, T., Kadota, A., Okamura, T., Ueshima, H. & Sekikawa, A. (2017). Significant inverse association of equol-producer status with coronary artery calcification but not dietary isoflavones in healthy Japanese men. *British Journal of Nutrition*, 117, 260-266. <https://doi.org/10.1017/S000711451600458X>.
- Akbari, M., Tamtaji, O. R., Lankarani, K. B., Tabrizi, R., Dadgostar, E., Kolahdooz, F., Jamilian, M., Mirzaei, H., & Asemi, Z. (2019). The Effects of Resveratrol Supplementation on Endothelial Function and Blood Pressures Among Patients with Metabolic Syndrome and Related Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, 26(4), 305–319. <https://doi.org/10.1007/s40292-019-00324-6>.
- Akkoç, Y., Berrak, Ö., Arisan, E. D., Obakan, P., Çoker-Gürkan, A., & Palavan-Ünsal, N. (2015). Inhibition of PI3K signaling triggered apoptotic potential of curcumin which is hindered by Bcl-2

- through activation of autophagy in MCF-7 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 71, 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.02.029>
- Alam, M. N., Almoyad, M., & Huq, F. (2018). Polyphenols in colorectal cancer: current state of knowledge including clinical trials and molecular mechanism of action. *Biomed Research International*, 2018, 4154185. <https://doi.org/10.1155/2018/4154185>.
- Alves-Santos, A., Sugizaki, C. S., Lima, G., & Naves, M. M. (2020). Prebiotic effect of dietary polyphenols: A systematic review. *Journal of Functional Foods*, 74, 104169. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104169>.
- Andreasen, M. F., Kroon, P. A., Williamson, G., & Garcia-Conesa, M. T. (2001). Esterase activity able to hydrolyze dietary antioxidant hydroxycinnamates is distributed along the intestine of mammals. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49(11), 5679–5684. <https://doi.org/10.1021/jf010668c>.
- Andrés-Lacueva, C., Macarulla, M. T., Rotches-Ribalta, M., Boto-Ordóñez, M., Urpi-Sarda, M., Rodríguez, V. M., & Portillo, M. P. (2012). Distribution of resveratrol metabolites in liver, adipose tissue, and skeletal muscle in rats fed different doses of this polyphenol. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 60(19), 4833–4840. <https://doi.org/10.1021/jf3001108>
- Andreux, P. A., Blanco-Bose, W., Ryu, D., Burdet, F., Ibberson, M., Aebischer, P., Auwerx, J., Singh, A., & Rinsch, C. (2019). The mitophagy activator urolithin A is safe and induces a molecular signature of improved mitochondrial and cellular health in humans. *Nature Metabolism*, 1(6), 595–603. <https://doi.org/10.1038/s42255-019-0073-4>
- Angmo, K., Kumari, A., & Savitri, & Bhalla, T. C. (2016). Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 428–435. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.057>
- Anhê, F. F., Choi, B. S. Y., Dyck, J. R. B., Schertzer, J. D., & Marette, A. (2019). Host-microbe interplay in the cardiometabolic benefits of dietary polyphenols. *Trends In Endocrinology And Metabolism*, 30(6), 384–395. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.04.002>
- Anhê, F. F., Roy, D., Pilon, G., Dudonné, S., Matamoros, S., Varin, T. V., Garofalo, C., Moine, Q., Desjardins, Y., Levy, E., & Marette, A. (2015). 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*, 64(6), 872–883. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307142>.
- Aqil, F., Munagala, R., Jeyabalan, J., Agrawal, A.K., & Gupta, R. (2017). Exosomes for the enhanced tissue bioavailability and efficacy of curcumin. *AAPS Journal*, 19, 1691–1702. <https://doi.org/10.1208/s12248-017-0154-9>.
- Arapitsas, P., Perenzoni, D., Guella, G., & Mattivi, F. (2021). Improving the phloroglucinolysis protocol and characterization of sagrantino wines proanthocyanidins. *Molecules*, 26(4), 1087. <https://doi.org/10.3390/molecules26041087>
- Arola-Arnal, A., López de Las Hazas, M. C., Iglesias-Carres, L., Mantilla-Escalante, D. C., Suárez, M., Busto, R., Visioli, F., Bladé, C., & Dávalos, A. (2020). Exosomes transport trace amounts of (poly)phenols. *Food & Function*, 11(9), 7784–7792. <https://doi.org/10.1039/d0fo01824d>

- Arora, A., Nair, M. G., & Strasburg, G. M. (1998). Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. *Archives of Biochemistry And Biophysics*, 356(2), 133–141. <https://doi.org/10.1006/abbi.1998.0783>
- Arts, I. C., & Hollman, P. C. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 81(1), 317S–325S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.317S>
- Aso, T., Uchiyama, S., Matsumura, Y., Taguchi, M., Nozaki, M., Takamatsu, K., Ishizuka, B., Kubota, T., Mizunuma, H., & Ohta, H. (2012). A natural S-equol supplement alleviates hot flushes and other menopausal symptoms in equol nonproducing postmenopausal Japanese women. *Journal Of Women's Health*, 21(1), 92–100. <https://doi.org/10.1089/jwh.2011.2753>
- Atkinson, C., Newton, K. M., Bowles, E. J., Yong, M., & Lampe, J. W. (2008). Demographic, anthropometric, and lifestyle factors and dietary intakes in relation to daidzein-metabolizing phenotypes among premenopausal women in the United States. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 87(3), 679–687. <https://doi.org/10.1093/ajcn/87.3.679>
- Aune, D., Giovannucci, E., Boffetta, P., Fadnes, L. T., Keum, N., Norat, T., Greenwood, D. C., Riboli, E., Vatten, L. J., & Tonstad, S. (2017). Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality-a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *International Journal Of Epidemiology*, 46(3), 1029–1056. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw319>.
- Aura, A. M. (2008). Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Phytochemistry Reviews*, 7(3), 407–429. <https://doi.org/10.1007/s11101-008-9095-3>.
- Ávila-Gálvez, M. Á., García-Villalba, R., Martínez-Díaz, F., Ocaña-Castillo, B., Monedero-Saiz, T., Torrecillas-Sánchez, A., Abellán, B., González-Sarrías, A., & Espín, J. C. (2019). Metabolic profiling of dietary polyphenols and methylxanthines in normal and malignant mammary tissues from breast cancer patients. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(9), e1801239. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801239>.
- Ávila-Gálvez, M. Á., Giménez-Bastida, J. A., González-Sarrías, A., & Espín, J. C. (2021a). New insights into the metabolism of the flavanones eriocitrin and hesperidin: a comparative human pharmacokinetic study. *Antioxidants*, 10(3), 435. <https://doi.org/10.3390/antiox10030435>
- Ávila-Gálvez, M. Á., González-Sarrías, A., & Espín, J. C. (2018). *In vitro* research on dietary polyphenols and health: a call of caution and a guide on how to proceed. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 66(30), 7857–7858. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03377>
- Ávila-Gálvez, M. Á., González-Sarrías, A., Martínez-Díaz, F., Abellán, B., Martínez-Torrano, A. J., Fernández-López, A. J., Giménez-Bastida, J. A., & Espín, J. C. (2021b). Disposition of dietary polyphenols in breast cancer patients' tumors, and their associated anticancer activity: the particular case of curcumin. *Molecular Nutrition & Food Research*, 65(12), e2100163. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202100163>.
- Aydinol, P., & Ozcan, T. (2018). Production of reduced-fat Labneh cheese with inulin and β -glucan fibre-based fat replacer. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 362–371. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12456>

- Azorín-Ortuño, M., Yáñez-Gascón, M. J., Vallejo, F., Pallarés, F. J., Larrosa, M., Lucas, R., Morales, J. C., Tomás-Barberán, F. A., García-Conesa, M. T., & Espín, J. C. (2011). Metabolites and tissue distribution of resveratrol in the pig. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(8), 1154–1168. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100140>
- Bäckhed, F., Manchester, J. K., Semenkovich, C. F., & Gordon, J. I. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(3), 979–984. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605374104>.
- Bäckhed, F., Roswall, J., Peng, Y., Feng, Q., Jia, H., Kovatcheva-Datchary, P., Li, Y., Xia, Y., Xie, H., Zhong, H., Khan, M. T., Zhang, J., Li, J., Xiao, L., Al-Aama, J., Zhang, D., Lee, Y. S., Kotowska, D., Colding, C., Tremaroli, V., ... Wang, J. (2015). Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host & Microbe*, 17(6), 852. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.05.012>.
- Balaj, L., Atai, N. A., Chen, W., Mu, D., Tannous, B. A., Breakefield, X. O., Skog, J., & Maguire, C. A. (2015). Heparin affinity purification of extracellular vesicles. *Scientific Reports*, 5, 10266. <https://doi.org/10.1038/srep10266>
- Baranyai, T., Herczeg, K., Onódi, Z., Voszka, I., Módos, K., Marton, N., Nagy, G., Mäger, I., Wood, M. J., El Andaloussi, S., Pálkás, Z., Kumar, V., Nagy, P., Kittel, Á., Buzás, E. I., Ferdinandy, P., & Giricz, Z. (2015). Isolation of exosomes from blood plasma: qualitative and quantitative comparison of ultracentrifugation and size exclusion chromatography methods. *Plos One*, 10(12), e0145686. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145686>
- Barber, C., Mego, M., Sabater, C., Vallejo, F., Bendezu, R. A., Masihi, M., Guarner, F., Espín, J. C., Margolles, A., & Azpiroz, F. (2021). Differential effects of western and mediterranean-type diets on gut microbiota: a metagenomics and metabolomics approach. *Nutrients*, 13(8), 2638. <https://doi.org/10.3390/nu13082638>
- Barbieri, R., Coppo, E., Marchese, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2017). Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiological Research*, 196, 44–68. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.12.003>.
- Barile, L., & Vassalli, G. (2017). Exosomes: Therapy delivery tools and biomarkers of diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, 174, 63–78. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.020>
- Basholli-Salih, M., Schuster, R., Mulla, D., Praznik, W., Viernstein, H., & Mueller, M. (2016). Bioconversion of piceid to resveratrol by selected probiotic cell extracts. *Bioprocess And Biosystems Engineering*, 39(12), 1879–1885. <https://doi.org/10.1007/s00449-016-1662-1>
- Bastos, P., Gomes, T., & Ribeiro, L. (2017). Catechol-o-methyltransferase (COMT): an update on its role in cancer, neurological and cardiovascular diseases. *Reviews Of Physiology, Biochemistry And Pharmacology*, 173, 1–39. https://doi.org/10.1007/112_2017_2
- Bebelman, M. P., Smit, M. J., Pegtel, D. M., & Baglio, S. R. (2018). Biogenesis and function of extracellular vesicles in cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 188, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.02.013>

- Beckman C. H. (2000). Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defense responses in plants? *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57, 101–110. <https://doi.org/10.1006/pmpp.2000.0287>
- Belcaro, G., Saggino, A., Cornelli, U., Luzzi, R., Dugall, M., Hosoi, M., Feragalli, B., & Cesarone, M. R. (2018). Improvement in mood, oxidative stress, fatigue, and insomnia following supplementary management with Robuvit®. *Journal Of Neurosurgical Sciences*, 62(4), 423–427. <https://doi.org/10.23736/S0390-5616.18.04384-9>
- Bellone, J. A., Murray, J. R., Jorge, P., Fogel, T. G., Kim, M., Wallace, D. R., & Hartman, R. E. (2019). Pomegranate supplementation improves cognitive and functional recovery following ischemic stroke: A randomized trial. *Nutritional Neuroscience*, 22(10), 738–743. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1436413>
- Beltrán, D., Frutos-Lisón, M. D., García-Villalba, R., Yuste, J. E., García, V., Espín, J. C., Selma, M. V., & Tomás-Barberán, F. A. (2023). NMR spectroscopic identification of urolithin G, a novel trihydroxy urolithin produced by human intestinal *Enterocloster* species. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 71(31), 11921–11928. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c01675>
- Beltrán, D., Romo-Vaquero, M., Espín, J. C., Tomás-Barberán, F. A., & Selma, M. V. (2018). *Ellagibacter isourolithinifaciens* gen. nov., sp. nov., a new member of the family *Eggerthellaceae*, isolated from human gut. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 68(5), 1707–1712. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002735>.
- Berrak, Ö., Akkoç, Y., Arisan, E. D., Çoker-Gürkan, A., Obakan-Yerlikaya, P., & Palavan-Ünsal, N. (2016). The inhibition of PI3K and NFκB promoted curcumin-induced cell cycle arrest at G2/M via altering polyamine metabolism in Bcl-2 overexpressing MCF-7 breast cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 77, 150–160. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.12.007>
- Bess, E. N., Bisanz, J. E., Yarza, F., Bustion, A., Rich, B. E., Li, X., Kitamura, S., Waligurski, E., Ang, Q. Y., Alba, D. L., Spanogiannopoulos, P., Nayfach, S., Koliwad, S. K., Wolan, D. W., Franke, A. A., & Turnbaugh, P. J. (2020). Genetic basis for the cooperative bioactivation of plant lignans by *Eggerthella lenta* and other human gut bacteria. *Nature Microbiology*, 5(1), 56–66. <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0596-1>
- Bindels, L. B., Delzenne, N. M., Cani, P. D., & Walter, J. (2015). Towards a more comprehensive concept for prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & Hepatology*, 12(5), 303–310. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.47>.
- Bird, J. K., Raederstorff, D., Weber, P., & Steinert, R. E. (2017). Cardiovascular and antiobesity effects of resveratrol mediated through the gut microbiota. *Advances In Nutrition*, 8(6), 839–849. <https://doi.org/10.3945/an.117.016568>
- Bode, L. M., Bunzel, D., Huch, M., Cho, G. S., Ruhland, D., Bunzel, M., Bub, A., Franz, C. M., & Kulling, S. E. (2013). *In vivo* and *in vitro* metabolism of trans-resveratrol by human gut microbiota. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 97(2), 295–309. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.049379>
- Boersma, M. G., van der Woude, H., Bogaards, J., Boeren, S., Vervoort, J., Cnubben, N. H., van Iersel, M. L., van Bladeren, P. J., & Rietjens, I. M. (2002). Regioselectivity of phase II metabolism of

- luteolin and quercetin by UDP-glucuronosyl transferases. *Chemical Research In Toxicology*, 15(5), 662–670. <https://doi.org/10.1021/tx0101705>
- Boffetta, P., Couto, E., Wichmann, J., Ferrari, P., Trichopoulos, D., Bueno-de-Mesquita, H. B., van Duijnhoven, F. J., Büchner, F. L., Key, T., Boeing, H., Nöthlings, U., Linseisen, J., Gonzalez, C. A., Overvad, K., Nielsen, M. R., Tjønneland, A., Olsen, A., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M. C., Morois, S., ... Trichopoulou, A. (2010). Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Journal of the National Cancer Institute*, 102(8), 529–537. <https://doi.org/10.1093/jnci/djq072>
- Bohn, T., McDougall, G. J., Alegría, A., Alminger, M., Arrigoni, E., Aura, A., Brito, C., Cilla, A., El, S. N., Karakaya, S., Martínez-Cuesta, M. C., & Santos, C. N. (2015). Mind the gap- deficits in our knowledge of aspects impacting the bioavailability of phytochemicals and their metabolites- a position paper focusing on carotenoids and polyphenols. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59, 1307-1323. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400745>.
- Bolca, S., Van de Wiele, T., & Possemiers, S. (2013). Gut metabolotypes govern health effects of dietary polyphenols. *Current Opinion In Biotechnology*, 24(2), 220–225. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.09.009>
- Bookheimer, S. Y., Renner, B. A., Ekstrom, A., Li, Z., Henning, S. M., Brown, J. A., Jones, M., Moody, T., & Small, G. W. (2013). Pomegranate juice augments memory and FMRI activity in middle-aged and older adults with mild memory complaints. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*, 2013, 946298. <https://doi.org/10.1155/2013/946298>
- Borges, G., Ottaviani, J. I., van der Hooft, J. J. J., Schroeter, H., & Crozier, A. (2018). Absorption, metabolism, distribution and excretion of (-)-epicatechin: A review of recent findings. *Molecular aspects of medicine*, 61, 18–30. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.11.002>
- Boriachek, K., Masud, M. K., Palma, C., Phan, H. P., Yamauchi, Y., Hossain, M. S. A., Nguyen, N. T., Salomon, C., & Shiddiky, M. J. A. (2019). Avoiding pre-isolation step in exosome analysis: direct isolation and sensitive detection of exosomes using gold-loaded nanoporous ferric oxide nanozymes. *Analytical Chemistry*, 91(6), 3827–3834. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b03619>
- Bosland, M. C., Enk, E., Schmoll, J., Schlicht, M. J., Randolph, C., Deaton, R. J., Xie, H., Zeleniuch-Jacquotte, A., & Kato, I. (2021). Soy protein supplementation in men following radical prostatectomy: a 2-year randomized, placebo-controlled clinical trial. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 113(4), 821–831. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa390>
- Bourian, M., Runkel, M., Krisp, A., Tegtmeier, M., Freudenstein, J., & Legrum, W. (1999). Naringenin and interindividual variability in the interaction of coumarin with grapefruit juice. *Experimental And Toxicologic Pathology*, 51, 289-293. [https://doi.org/10.1016/S0940-2993\(99\)80008-6](https://doi.org/10.1016/S0940-2993(99)80008-6).
- Bowdish, D. M., Davidson, D. J., & Hancock, R. E. (2005). A re-evaluation of the role of host defence peptides in mammalian immunity. *Current Protein & Peptide Science*, 6(1), 35–51. <https://doi.org/10.2174/1389203053027494>
- Braune, A., & Blaut, M. (2016). Bacterial species involved in the conversion of dietary flavonoids in the human gut. *Gut Microbes*, 7(3), 216–234. <https://doi.org/10.1080/19490976.2016.1158395>

- Braune, A., Gütschow, M., Engst, W., & Blaut, M. (2001). Degradation of quercetin and luteolin by *Eubacterium ramulus*. *Applied And Environmental Microbiology*, 67(12), 5558–5567. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.12.5558-5567.2001>.
- Bravo L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>.
- Brito, A. F., & Zang, Y. (2018). A review of lignan metabolism, milk enterolactone concentration, and antioxidant status of dairy cows fed flaxseed. *Molecules*, 24(1), 41. <https://doi.org/10.3390/molecules24010041>
- Budin, I., Debnath, A., & Szostak, J. W. (2012). Concentration-driven growth of model protocell membranes. *Journal of the American Chemical Society*, 134(51), 20812–20819. <https://doi.org/10.1021/ja310382d>
- Burchell, B., Brierley, C. H., & Rance, D. (1995). Specificity of human UDP-glucuronosyltransferases and xenobiotic glucuronidation. *Life Sciences*, 57(20), 1819–1831. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(95\)02073-r](https://doi.org/10.1016/0024-3205(95)02073-r)
- Buschmann, D., Kirchner, B., Hermann, S., Märte, M., Wurmser, C., Brandes, F., Kotschote, S., Bonin, M., Steinlein, O. K., Pfaffl, M. W., Schelling, G., & Reithmair, M. (2018). Evaluation of serum extracellular vesicle isolation methods for profiling miRNAs by next-generation sequencing. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 7(1), 1481321. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1481321>
- Byrne, C. S., Chambers, E. S., Morrison, D. J., & Frost, G. (2015). The role of short chain fatty acids in appetite regulation and energy homeostasis. *International Journal Of Obesity*, 39(9), 1331–1338. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.84>
- Canani, R. B., Costanzo, M. D., Leone, L., Pedata, M., Meli, R., & Calignano, A. (2011). Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World Journal Of Gastroenterology*, 17(12), 1519–1528. <https://doi.org/10.3748/wjg.v17.i12.1519>
- Candela, M., Maccaferri, S., Turroni, S., Carnevali, P., & Brigidi, P. (2010). Functional intestinal microbiome, new frontiers in prebiotic design. *International Journal Of Food Microbiology*, 140(2-3), 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.017>
- Canfora, E. E., Jocken, J. W., & Blaak, E. E. (2015). Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology*, 11(10), 577–591. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>.
- Canfrán-Duque, A., Pastor, O., Quintana-Portillo, R., Lerma, M., de la Peña, G., Martín-Hidalgo, A., Fernández-Hernando, C., Lasunción, M. A., & Busto, R. (2014). Curcumin promotes exosomes/microvesicles secretion that attenuates lysosomal cholesterol traffic impairment. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(4), 687–697. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300350>
- Canfrán-Duque, A., Pastor, O., Reina, M., Lerma, M., Cruz-Jentoft, A. J., Lasunción, M. A., & Busto, R. (2015). Curcumin mitigates the intracellular lipid deposit induced by antipsychotics *in vitro*. *Plos One*, 10, e0141829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141829>

- Carnino, J. M., Lee, H., & Jin, Y. (2019). Isolation and characterization of extracellular vesicles from Broncho-alveolar lavage fluid: a review and comparison of different methods. *Respiratory Research*, 20(1), 240. <https://doi.org/10.1186/s12931-019-1210-z>
- Caspani, G., & Swann, J. (2019). Small talk: microbial metabolites involved in the signaling from microbiota to brain. *Current Opinion In Pharmacology*, 48, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2019.08.001>
- Cassidy, A., & Minihane, A. M. (2017). The role of metabolism (and the microbiome) in defining the clinical efficacy of dietary flavonoids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 105, 10-22. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.136051>
- Cerdá, B., Espín, J. C., Parra, S., Martínez, P., & Tomás-Barberán, F. A. (2004). The potent *in vitro* antioxidant ellagitannins from pomegranate juice are metabolized into bioavailable but poor antioxidant hydroxy-6H-dibenzopyran-6-one derivatives by the colonic microflora of healthy humans. *European Journal Of Nutrition*, 43(4), 205–220. <https://doi.org/10.1007/s00394-004-0461-7>
- Cerdá, B., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2005). Metabolism of antioxidant and chemopreventive ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts, and oak-aged wine in humans: identification of biomarkers and individual variability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 227-235. <https://doi.org/10.1021/jf049144d>.
- Cervantes-Barragán, L., Chai, J. N., Tianero, M. D., Di Luccia, B., Ahern, P. P., Merriman, J., Cortez, V. S., Caparon, M. G., Donia, M. S., Gilfillan, S., Cella, M., Gordon, J. I., Hsieh, C. S., & Colonna, M. (2017). *Lactobacillus reuteri* induces gut intraepithelial CD4+CD8αα+ T cells. *Science*, 357(6353), 806–810. <https://doi.org/10.1126/science.aah5825>
- Chagas, M. D. S. S., Behrens, M. D., Moragas-Tellis, C. J., Penedo, G. X. M., Silva, A. R., & Gonçalves-de-Albuquerque, C. F. (2022). Flavonols and flavones as potential anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial compounds. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2022, 9966750. <https://doi.org/10.1155/2022/9966750>
- Chambers, E. S., Viardot, A., Psichas, A., Morrison, D. J., Murphy, K. G., Zac-Varghese, S. E., MacDougall, K., Preston, T., Tedford, C., Finlayson, G. S., Blundell, J. E., Bell, J. D., Thomas, E. L., Mt-Isa, S., Ashby, D., Gibson, G. R., Kolida, S., Dhillo, W. S., Bloom, S. R., Morley, W., ... Frost, G. (2015). Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. *Gut*, 64(11), 1744–1754. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307913>
- Champagne, C. P., Gomes da Cruz, A., & Daga, M. (2018). Strategies to improve the functionality of probiotics in supplements and foods. *Current Opinion in Food Science*, 22, 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.04.008>
- Chaplin, A., Carpené, C., & Mercader, J. (2018). Resveratrol, metabolic syndrome, and gut microbiota. *Nutrients*, 10(11), 1651. <https://doi.org/10.3390/nu10111651>
- Chen, C. C., Liu, L., Ma, F., Wong, C. W., Guo, X. E., Chacko, J. V., Farhoodi, H. P., Zhang, S. X., Zimak, J., Ségaliny, A., Riazifar, M., Pham, V., Digman, M. A., Pone, E. J., & Zhao, W. (2016b). Elucidation of exosome migration across the blood-brain barrier model *in vitro*. *Cellular And Molecular Bioengineering*, 9(4), 509–529. <https://doi.org/10.1007/s12195-016-0458-3>

- Chen, C., Skog, J., Hsu, C. H., Lessard, R. T., Balaj, L., Wurdinger, T., Carter, B. S., Breakefield, X. O., Toner, M., & Irimia, D. (2010). Microfluidic isolation and transcriptome analysis of serum microvesicles. *Lab On A Chip*, 10(4), 505–511. <https://doi.org/10.1039/b916199f>
- Chen, F. P., & Chien, M. H. (2014). Phytoestrogens induce apoptosis through a mitochondria/caspase pathway in human breast cancer cells. *Climacteric: The Journal Of The International Menopause Society*, 17(4), 385–392. <https://doi.org/10.3109/13697137.2013.869671>
- Chen, J., Xu, Y., Wang, X., Liu, D., Yang, F., Zhu, X., Lu, Y., & Xing, W. (2019). Rapid and efficient isolation and detection of extracellular vesicles from plasma for lung cancer diagnosis. *Lab On A Chip*, 19(3), 432–443. <https://doi.org/10.1039/c8lc01193a>
- Chen, M. L., Yi, L., Zhang, Y., Zhou, X., Ran, L., Yang, J., Zhu, J. D., Zhang, Q. Y., & Mi, M. T. (2016a). Resveratrol attenuates trimethylamine-n-oxide (TMAO)-induced atherosclerosis by regulating TMAO synthesis and bile acid metabolism via remodeling of the gut microbiota. *mBio*, 7(2), e02210–e2215. <https://doi.org/10.1128/mBio.02210-15>
- Cheng, J., Ringel-Kulka, T., Heikamp-de Jong, I., Ringel, Y., Carroll, I., de Vos, W. M., Salojärvi, J., & Satokari, R. (2016). Discordant temporal development of bacterial phyla and the emergence of core in the fecal microbiota of young children. *The ISME Journal*, 10(4), 1002–1014. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.177>.
- Cheng, L., Sharples, R. A., Scicluna, B. J., & Hill, A. F. (2014). Exosomes provide a protective and enriched source of miRNA for biomarker profiling compared to intracellular and cell-free blood. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 3, 10.3402/jev.v3.23743. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.23743>
- Cheng, L., Vella, L. J., Barnham, K. J., McLean, C., Masters, C. L., & Hill, A. F. (2020a). Small RNA fingerprinting of Alzheimer's disease frontal cortex extracellular vesicles and their comparison with peripheral extracellular vesicles. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 9(1), 1766822. <https://doi.org/10.1080/20013078.2020.1766822>
- Cheng, P. F., Chen, J. J., Zhou, X. Y., Ren, Y. F., Huang, W., Zhou, J. J., & Xie, P. (2015). Do soy isoflavones improve cognitive function in postmenopausal women? A meta-analysis. *Menopause*, 22(2), 198–206. <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000000290>.
- Cheng, Y., Ling, Z., & Li, L. (2020b). The intestinal microbiota and colorectal cancer. *Frontiers In Immunology*, 11, 615056. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.615056>
- Cheng, H., Zhang, D., Wu, J., Liu, J., Zhou, Y., Tan, Y., Feng, W., & Peng, C. (2023). Interactions between gut microbiota and polyphenols: A mechanistic and metabolomic review. *Phytomedicine: International Journal Of Phytotherapy And Phytopharmacology*, 119, 154979. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.154979>
- Cheruvanky, A., Zhou, H., Pisitkun, T., Kopp, J. B., Knepper, M. A., Yuen, P. S., & Star, R. A. (2007). Rapid isolation of urinary exosomal biomarkers using a nanomembrane ultrafiltration concentrator. *American Journal Of Physiology. Renal Physiology*, 292(5), F1657–F1661. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00434.2006>

- Chevillet, J. R., Kang, Q., Ruf, I. K., Briggs, H. A., Vojtech, L. N., Hughes, S. M., Cheng, H. H., Arroyo, J. D., Meredith, E. K., Gallichotte, E. N., Pogossova-Agadjanyan, E. L., Morrissey, C., Stirewalt, D. L., Hladik, F., Yu, E. Y., Higano, C. S., & Tewari, M. (2014). Quantitative and stoichiometric analysis of the microRNA content of exosomes. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 111(41), 14888–14893. <https://doi.org/10.1073/pnas.1408301111>
- Chiu, L., Bazin, T., Truchetet, M. E., Schaefferbeke, T., Delhaes, L., & Pradeu, T. (2017). Protective microbiota: from localized to long-reaching co-immunity. *Frontiers In Immunology*, 8, 1678. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01678>
- Cho, I., Yamanishi, S., Cox, L., Methé, B. A., Zavadil, J., Li, K., Gao, Z., Mahana, D., Raju, K., Teitler, I., Li, H., Alekseyenko, A. V., & Blaser, M. J. (2012). Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature*, 488(7413), 621–626. <https://doi.org/10.1038/nature11400>
- Ciardiello, C., Cavallini, L., Spinelli, C., Yang, J., Reis-Sobreiro, M., de Candia, P., Minciocchi, V. R., & Di Vizio, D. (2016). Focus on extracellular vesicles: new frontiers of cell-to-cell communication in cancer. *International Journal Of Molecular Sciences*, 17(2), 175. <https://doi.org/10.3390/ijms17020175>
- Claesson, M. J., Jeffery, I. B., Conde, S., Power, S. E., O'Connor, E. M., Cusack, S., Harris, H. M., Coakley, M., Lakshminarayanan, B., O'Sullivan, O., Fitzgerald, G. F., Deane, J., O'Connor, M., Harnedy, N., O'Connor, K., O'Mahony, D., van Sinderen, D., Wallace, M., Brennan, L., Stanton, C., ... O'Toole, P. W. (2012). Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, 488(7410), 178–184. <https://doi.org/10.1038/nature11319>
- Clavel, T., Desmarchelier, C., Haller, D., Gérard, P., Rohn, S., Lepage, P., & Daniel, H. (2014). Intestinal microbiota in metabolic diseases: from bacterial community structure and functions to species of pathophysiological relevance. *Gut Microbes*, 5(4), 544–551. <https://doi.org/10.4161/gmic.29331>
- Clavel, T., Mapesa, J.O. (2013). Phenolics in human nutrition: importance of the intestinal microbiome for isoflavone and lignan bioavailability. In: Ramawat, K., Mérillon, JM. (eds) *Natural Products*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_94
- Clifford M. N., Scalbert A. (2000). Ellagitannins—occurrence in food, bioavailability and cancer prevention. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 80, 1118–25
- Clifford, M. N. (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 80(7), 1033-1043. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<1033::AID-JSFA595>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1033::AID-JSFA595>3.0.CO;2-T)
- Clifford, M. N., van der Hooft, J. J., & Crozier, A. (2013). Human studies on the absorption, distribution, metabolism, and excretion of tea polyphenols. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 98(6), 1619S–1630S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.058958>
- Coello, K., Hansen, T. H., Sørensen, N., Ottesen, N. M., Miskowiak, K. W., Pedersen, O., Kessing, L. V., & Vinberg, M. (2021). Affective disorders impact prevalence of *Flavonifractor* and abundance of *Christensenellaceae* in gut microbiota. *Progress In Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 110, 110300. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110300>

- Collins, S. L., McMillan, A., Seney, S., van der Veer, C., Kort, R., Sumarah, M. W., & Reid, G. (2018). Promising prebiotic candidate established by evaluation of lactitol, lactulose, raffinose, and oligofructose for maintenance of a *Lactobacillus*-dominated vaginal microbiota. *Applied And Environmental Microbiology*, 84(5), e02200-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02200-17>
- Colombo, M., Raposo, G., & Théry, C. (2014). Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annual Review Of Cell And Developmental Biology*, 30, 255–289. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-101512-122326>.
- Contreras-Naranjo, J. C., Wu, H. J., & Ugaz, V. M. (2017). Microfluidics for exosome isolation and analysis: enabling liquid biopsy for personalized medicine. *Lab On A Chip*, 17(21), 3558–3577. <https://doi.org/10.1039/c7lc00592j>
- Cornwell, T., Cohick, W., & Raskin, I. (2004). Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry*, 65(8), 995–1016. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.03.005>.
- Corr, S. C., Li, Y., Riedel, C. U., O'Toole, P. W., Hill, C., & Gahan, C. G. (2007). Bacteriocin production as a mechanism for the antiinfective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(18), 7617–7621. <https://doi.org/10.1073/pnas.0700440104>
- Cortés-Martín, A., , García-Villalba, R., , González-Sarriás, A., , Romo-Vaquero, M., , Loria-Kohen, V., , Ramírez-de-Molina, A., , Tomás-Barberán, F. A., , Selma, M. V., , & Espín, J. C., (2018). The gut microbiota urolithin metabolites revisited: the human metabolism of ellagic acid is mainly determined by aging. *Food & Function*, 9(8), 4100–4106. <https://doi.org/10.1039/c8fo00956b>
- Cortés-Martín, A., Colmenarejo, G., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2020b). Genetic polymorphisms, mediterranean diet and microbiota-associated urolithin metabolites can predict obesity in childhood-adolescence. *Scientific Reports*, 10(1), 7850. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64833-4>
- Cortés-Martín, A., Iglesias-Aguirre, C. E., Meoro, A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2021). Pharmacological therapy determines the gut microbiota modulation by a pomegranate extract nutraceutical in metabolic syndrome: a randomized clinical trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 65(6), e2001048. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202001048>.
- Cortés-Martín, A., Romo-Vaquero, M., García-Mantrana, I., Rodríguez-Varela, A., Collado, M. C., Espín, J. C., & Selma, M. V. (2019b). Urolithin metabolites can anticipate the different restoration of the gut microbiota and anthropometric profiles during the first year postpartum. *Nutrients*, 11(9), 2079. <https://doi.org/10.3390/nu11092079>
- Cortés-Martín, A., Selma, M. V., Espín, J. C., & García-Villalba, R. (2019). The human metabolism of nuts proanthocyanidins does not reveal urinary metabolites consistent with distinctive gut microbiota metabolites. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63, e1800819. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800819>.
- Cortés-Martín, A., Selma, M. V., Tomás-Barberán, F. A., González-Sarriás, A., & Espín, J. C. (2020a). Where to look into the puzzle of polyphenols and health? The postbiotics and gut microbiota associated with human metabolites. *Molecular Nutrition & Food Research*, 64(9), e1900952. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900952>.

- Costeloe, K., Hardy, P., Juszczak, E., Wilks, M., Millar, M. R., & Probiotics in Preterm Infants Study Collaborative Group (2016). *Bifidobacterium breve* BBG-001 in very preterm infants: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet*, 387(10019), 649–660. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01027-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01027-2)
- Cotillard, A., Kennedy, S. P., Kong, L. C., Prifti, E., Pons, N., Le Chatelier, E., Almeida, M., Quinquis, B., Levenez, F., Galleron, N., Gougis, S., Rizkalla, S., Batto, J. M., Renault, P., ANR MicroObes consortium, Doré, J., Zucker, J. D., Clément, K., & Ehrlich, S. D. (2013). Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*, 500(7464), 585–588. <https://doi.org/10.1038/nature12480>
- Coughtrie, M. W., Sharp, S., Maxwell, K., & Innes, N. P. (1998). Biology and function of the reversible sulfation pathway catalysed by human sulfotransferases and sulfatases. *Chemico-Biological Interactions*, 109(1-3), 3–27. [https://doi.org/10.1016/s0009-2797\(97\)00117-8](https://doi.org/10.1016/s0009-2797(97)00117-8)
- Coumans, F. A. W., Brisson, A. R., Buzas, E. I., Dignat-George, F., Drees, E. E. E., El-Andaloussi, S., Emanuelli, C., Gasecka, A., Hendrix, A., Hill, A. F., Lacroix, R., Lee, Y., van Leeuwen, T. G., Mackman, N., Mäger, I., Nolan, J. P., van der Pol, E., Pegtel, D. M., Sahoo, S., Siljander, P. R. M., ... Nieuwland, R. (2017). Methodological guidelines to study extracellular vesicles. *Circulation Research*, 120(10), 1632–1648. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.309417>
- Crescitelli, R., Lässer, C., Jang, S. C., Cvjetkovic, A., Malmhäll, C., Karimi, N., Höög, J. L., Johansson, I., Fuchs, J., Thorsell, A., Gho, Y. S., Olofsson Bagge, R., & Lötval, J. (2020). Subpopulations of extracellular vesicles from human metastatic melanoma tissue identified by quantitative proteomics after optimized isolation. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 9(1), 1722433. <https://doi.org/10.1080/20013078.2020.1722433>
- Daglia, M., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., Talas, Z. S., & Nabavi, S. M. (2014). Polyphenols: well beyond the antioxidant capacity: gallic acid and related compounds as neuroprotective agents: you are what you eat. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 15(4), 362–372. <https://doi.org/10.2174/138920101504140825120737>
- Daily, J. W., Ko, B. S., Ryuk, J., Liu, M., Zhang, W., & Park, S. (2019). Equol decreases hot flashes in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal Of Medicinal Food*, 22(2), 127–139. <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.4265>
- Dangles, O., Dufour, C., Manach, C., Morand, C., & Remesy, C. (2001). Binding of flavonoids to plasma proteins. *Methods In Enzymology*, 335, 319–333. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(01\)35254-0](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(01)35254-0)
- Dao, T. M., Waget, A., Klopp, P., Serino, M., Vachoux, C., Pechere, L., Drucker, D. J., Champion, S., Barthélemy, S., Barra, Y., Burcelin, R., & Séré, E. (2011). Resveratrol increases glucose induced GLP-1 secretion in mice: a mechanism which contributes to the glycemic control. *Plos One*, 6(6), e20700. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020700>
- D'Archivio, M., Files, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali Dell'istituto Superiore Di Sanita*, 43(4), 348–361.

- D'Archivio, M., Filesì, C., Vari, R., Scazzocchio, B., & Masella, R. (2010). Bioavailability of the polyphenols: status and controversies. *International Journal Of Molecular Sciences*, 11(4), 1321–1342. <https://doi.org/10.3390/ijms11041321>
- Datla, K. P., Christidou, M., Widmer, W. W., Rooprai, H. K., & Dexter, D. T. (2001). Tissue distribution and neuroprotective effects of citrus flavonoid tangeretin in a rat model of Parkinson's disease. *Neuroreport*, 12(17), 3871–3875. <https://doi.org/10.1097/00001756-200112040-00053>.
- David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. V., Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. B., Dutton, R. J., & Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559–563. <https://doi.org/10.1038/nature12820>.
- Day, A. J., & Williamson, G. (2001). Biomarkers for exposure to dietary flavonoids: a review of the current evidence for identification of quercetin glycosides in plasma. *The British Journal Of Nutrition*, 86(1), S105–S110. <https://doi.org/10.1079/bjn2001342>
- Day, A. J., Cañada, F. J., Díaz, J. C., Kroon, P. A., Mclauchlan, R., Faulds, C. B., Plumb, G. W., Morgan, M. R., & Williamson, G. (2000). Dietary flavonoid and isoflavone glycosides are hydrolysed by the lactase site of lactase phlorizin hydrolase. *FEBS Letters*, 468(2-3), 166–170. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(00\)01211-4](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)01211-4)
- Day, A. J., DuPont, M. S., Ridley, S., Rhodes, M., Rhodes, M. J., Morgan, M. R., & Williamson, G. (1998). Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver beta-glucosidase activity. *FEBS Letters*, 436(1), 71–75. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(98\)01101-6](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(98)01101-6)
- De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Zitoun, C., Duchamp, A., Bäckhed, F., & Mithieux, G. (2016). Microbiota-produced succinate improves glucose homeostasis via intestinal gluconeogenesis. *Cell Metabolism*, 24(1), 151–157. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.06.013>
- Decroos, K., Vanhemmens, S., Cattoir, S., Boon, N., & Verstraete, W. (2005). Isolation and characterisation of an equol-producing mixed microbial culture from a human faecal sample and its activity under gastrointestinal conditions. *Archives Of Microbiology*, 183(1), 45–55. <https://doi.org/10.1007/s00203-004-0747-4>
- Del Pozo-Acebo, L., Hazas, M. L. L., Tomé-Carneiro, J., Gil-Cabrero, P., San-Cristóbal, R., Bustos, R., García-Ruiz, A., & Dávalos, A. (2021). Bovine milk-derived exosomes as a drug delivery vehicle for miRNA-based therapy. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(3), 1105. <https://doi.org/10.3390/ijms22031105>
- Del Pozo-Acebo, L., López de Las Hazas, M. C., Margollés, A., Dávalos, A., & García-Ruiz, A. (2021). Eating microRNAs: pharmacological opportunities for cross-kingdom regulation and implications in host gene and gut microbiota modulation. *British Journal Of Pharmacology*, 178(11), 2218–2245. <https://doi.org/10.1111/bph.15421>
- Delmas, D., & Lin, H. Y. (2011). Role of membrane dynamics processes and exogenous molecules in cellular resveratrol uptake: consequences in bioavailability and activities. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(8), 1142–1153. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100065>

- Depommier, C., Everard, A., Druart, C., Plovier, H., Van Hul, M., Vieira-Silva, S., Falony, G., Raes, J., Maiter, D., Delzenne, N. M., de Barse, M., Loumaye, A., Hermans, M. P., Thissen, J. P., de Vos, W. M., & Cani, P. D. (2019). Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nature Medicine*, 25(7), 1096–1103. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0495-2>
- Déprez, S., Brezillon, C., Rabot, S., Philippe, C., Mila, I., Lapierre, C., & Scalbert, A. (2000). Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *The Journal Of Nutrition*, 130(11), 2733–2738. <https://doi.org/10.1093/jn/130.11.2733>
- Deshpande, G., Athalye-Jape, G., & Patole, S. (2018). Para-probiotics for preterm neonates-the next frontier. *Nutrients*, 10(7), 871. <https://doi.org/10.3390/nu10070871>
- Devlin, A. S., & Fischbach, M. A. (2015). A biosynthetic pathway for a prominent class of microbiota-derived bile acids. *Nature Chemical Biology*, 11(9), 685–690. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1864>
- DGAC. (2015). Scientific report of the 2015 dietary guidelines advisory committee: *Advisory Report To The Secretary Of Health And Human Services And The Secretary Of Agriculture*. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture Agricultural Research Service.
- Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and human health: the role of bioavailability. *Nutrients*, 13(1), 273. <https://doi.org/10.3390/nu13010273>
- Di Pede, G., Mena, P., Bresciani, L., Achour, M., Lamuela-Raventós, R. M., Estruch, R., Landberg, R., Kulling, S. E., Wishart, D., Rodriguez-Mateos, A., Crozier, A., Manach, C., & Del Rio, D. (2023). Revisiting the bioavailability of flavan-3-ols in humans: A systematic review and comprehensive data analysis. *Molecular Aspects Of Medicine*, 89, 101146. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2022.101146>
- DiGiulio, D. B., Romero, R., Kusanovic, J. P., Gómez, R., Kim, C. J., Seok, K. S., Gotsch, F., Mazaki-Tovi, S., Vaisbuch, E., Sanders, K., Bik, E. M., Chaiworapongsa, T., Oyarzún, E., & Relman, D. A. (2010). Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm pre-labor rupture of membranes. *American Journal Of Reproductive Immunology*, 64(1), 38–57. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2010.00830.x>
- Ding, S., Xu, S., Fang, J., & Jiang, H. (2020). The protective effect of polyphenols for colorectal cancer. *Frontiers In Immunology*, 11, 1407. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01407>
- Dingeo, G., Brito, A., Samouda, H., Iddir, M., La Frano, M. R., & Bohn, T. (2020). Phytochemicals as modifiers of gut microbial communities. *Food & Function*, 11(10), 8444–8471. <https://doi.org/10.1039/d0fo01483d>
- do Rosario, V. A., Chang, C., Spencer, J., Alahakone, T., Roodenrys, S., Francois, M., Weston-Green, K., Hölzel, N., Nichols, D. S., Kent, K., Williams, D., Wright, I. M. R., & Charlton, K. (2021). Anthocyanins attenuate vascular and inflammatory responses to a high fat high energy meal challenge in overweight older adults: A cross-over, randomized, double-blind clinical trial. *Clinical Nutrition*, 40(3), 879–889. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.09.041>

- Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(26), 11971–11975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>.
- Donia, M. S., & Fischbach, M. A. (2015). HUMAN MICROBIOTA. Small molecules from the human microbiota. *Science*, 349(6246), 1254766. <https://doi.org/10.1126/science.1254766>.
- Doyle, L. A., Yang, W., Abruzzo, L. V., Krogmann, T., Gao, Y., Rishi, A. K., & Ross, D. D. (1998). A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(26), 15665–15670. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.26.15665>
- Druart, C., Bindels, L. B., Schmaltz, R., Neyrinck, A. M., Cani, P. D., Walter, J., Ramer-Tait, A. E., & Delzenne, N. M. (2015). Ability of the gut microbiota to produce PUFA-derived bacterial metabolites: Proof of concept in germ-free versus conventionalized mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(8), 1603–1613. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500014>
- Du, J., Huang, P., Qian, Y., Yang, X., Cui, S., Lin, Y., Gao, C., Zhang, P., He, Y., Xiao, Q., & Chen, S. (2019). Fecal and blood microbial 16s rRNA gene alterations in chinese patients with multiple system atrophy and its subtypes. *Journal Of Parkinson's Disease*, 9(4), 711–721. <https://doi.org/10.3233/JPD-191612>
- Dueñas, M., Muñoz-González, I., Cueva, C., Jiménez-Girón, A., Sánchez-Patán, F., Santos-Buelga, C., Moreno-Arribas, M. V., & Bartolomé, B. (2015). A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols. *Biomed Research International*, 2015, 850902. <https://doi.org/10.1155/2015/850902>.
- Dufour, C., Loonis, M., & Dangles, O. (2007). Inhibition of the peroxidation of linoleic acid by the flavonoid quercetin within their complex with human serum albumin. *Free Radical Biology & Medicine*, 43(2), 241–252. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.009>
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S. R., Nelson, K. E., & Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308(5728), 1635–1638. <https://doi.org/10.1126/science.1110591>.
- Edwards, C. A., Havlik, J., Cong, W., Mullen, W., Preston, T., Morrison, D. J., & Combet, E. (2017). Polyphenols and health: Interactions between fibre, plant polyphenols and the gut microbiota. *Nutrition Bulletin*, 42(4), 356–360. <https://doi.org/10.1111/nbu.12296>.
- EFSA Panel on Dietetic Products and Nutrition and Allergies (NDA), Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to cocoa flavanols and maintenance of normal endothelium-dependent vasodilation pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006 (2012), *EFSA Journal*, 10, 2809, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2809>.
- EFSA Panel on Dietetic Products and Nutrition and Allergies (NDA), Scientific opinion on the substantiation of health claims related to polyphenols in olive and protection of LDL particles from oxidative damage (ID 1333, 1638, 1639, 1696, 2865), maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1639), maintenance of normal blood pressure (ID 3781), “anti-inflammatory properties” (ID 1882), “contributes to the upper respiratory tract health” (ID 3468), “can help to maintain a normal function of gastrointestinal tract” (3779), and “contributes

- to body defences against external agents” (ID 3467) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006 (2011), *EFSA Journal*, 9, 2033, <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2033>.
- El Khawand, T., Courtois, A., Valls, J., Richard, T., & Krisa, S. (2018). A review of dietary stilbenes: sources and bioavailability. *Phytochemistry Reviews*, 17, 1007–1029. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9578-9>
- Engevik, M. A., Luck, B., Visuthranukul, C., Ihekweazu, F. D., Engevik, A. C., Shi, Z., Danhof, H. A., Chang-Graham, A. L., Hall, A., Endres, B. T., Haidacher, S. J., Horvath, T. D., Haag, A. M., Devaraj, S., Garey, K. W., Britton, R. A., Hyser, J. M., Shroyer, N. F., & Versalovic, J. (2021). Human-derived *Bifidobacterium dentium* modulates the mammalian serotonergic system and gut-brain axis. *Cellular And Molecular Gastroenterology And Hepatology*, 11(1), 221–248. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2020.08.002>
- Engevik, M. A., Luk, B., Chang-Graham, A. L., Hall, A., Herrmann, B., Ruan, W., Endres, B. T., Shi, Z., Garey, K. W., Hyser, J. M., & Versalovic, J. (2019). *Bifidobacterium dentium* fortifies the intestinal mucus layer via autophagy and calcium signaling pathways. *mBio*, 10(3), e01087-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.01087-19>
- Eseberri, I., Trepiana, J., Léniz, A., Gómez-García, I., Carr-Ugarte, H., González, M., & Portillo, M. P. (2022). Variability in the beneficial effects of phenolic compounds: a review. *Nutrients*, 14(9), 1925. <https://doi.org/10.3390/nu14091925>
- Espín, J. C., González-Sarriás, A., & Tomás-Barberán, F. A. (2017). The gut microbiota: A key factor in the therapeutic effects of (poly)phenols. *Biochemical Pharmacology*, 139, 82–93. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.04.033>
- Etxeberria, U., Arias, N., Boqué, N., Macarulla, M. T., Portillo, M. P., Martínez, J. A., & Milagro, F. I. (2015). Reshaping faecal gut microbiota composition by the intake of trans-resveratrol and quercetin in high-fat sucrose diet-fed rats. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*, 26(6), 651–660. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.01.002>
- Falany C. N. (1997). Enzymology of human cytosolic sulfotransferases. *FASEB Journal*, 11(4), 206–216. <https://doi.org/10.1096/fasebj.11.4.9068609>.
- Falony, G., Joossens, M., Vieira-Silva, S., Wang, J., Darzi, Y., Faust, K., Kurilshikov, A., Bonder, M. J., Valles-Colomer, M., Vandeputte, D., Tito, R. Y., Chaffron, S., Rymenans, L., Verspecht, C., De Sutter, L., Lima-Mendez, G., D'hoë, K., Jonckheere, K., Homola, D., Garcia, R., ... Raes, J. (2016). Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science*, 352(6285), 560–564. <https://doi.org/10.1126/science.aad3503>.
- Fan, Y., Li, Y., Huang, S., Xu, H., Li, H., & Liu, B. (2020). Resveratrol-primed exosomes strongly promote the recovery of motor function in SCI rats by activating autophagy and inhibiting apoptosis via the PI3K signaling pathway. *Neuroscience Letters*, 736, 135262. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135262>
- FAO (2023). Food-based dietary guidelines. Consultado el 02 de Junio del 2023. <http://www.fao.org/nutrition/education/food-dietary-guidelines/home/en/>.

- Farias, D.D. P., de Araújo, F. F., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G.M. (2019). Prebiotics: Trends in food, health and technological applications. *Trends in Food Science and Technology*, 4. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.004>
- Farzaei, M. H., Rahimi, R., & Abdollahi, M. (2015). The role of dietary polyphenols in the management of inflammatory bowel disease. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 16(3), 196–210. <https://doi.org/10.2174/1389201016666150118131704>
- Fatima, N., Akhtar, T., & Sheikh, N. (2017). Prebiotics: a novel approach to treat hepatocellular carcinoma. *Canadian Journal Of Gastroenterology & Hepatology*, 6238106. <https://doi.org/10.1155/2017/6238106>
- Faust, K., Sathirapongsasuti, J. F., Izard, J., Segata, N., Gevers, D., Raes, J., & Huttenhower, C. (2012). Microbial co-occurrence relationships in the human microbiome. *Plos Computational Biology*, 8(7), e1002606. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002606>
- Fendl, B., Weiss, R., Fischer, M. B., Spittler, A., & Weber, V. (2016). Characterization of extracellular vesicles in whole blood: Influence of pre-analytical parameters and visualization of vesicle-cell interactions using imaging flow cytometry. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 478(1), 168–173. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.07.073>
- Feng Y., McDonald C. E., Vick B. A. (1988). C-glycosylflavones from hard red spring wheat bran. *Cereal chemistry*, 65, 452–6.
- Feng, X., Chen, X., Zheng, X., Zhu, H., Qi, Q., Liu, S., Zhang, H., & Che, J. (2021). Latest trend of milk derived exosomes: cargos, functions, and applications. *Frontiers In Nutrition*, 8, 747294. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.747294>
- Feng, Y., Wang, Y., Wang, P., Huang, Y., & Wang, F. (2018). Short-chain fatty acids manifest stimulative and protective effects on intestinal barrier function through the inhibition of NLRP3 inflammasome and autophagy. *Cellular Physiology And Biochemistry*, 49(1), 190–205. <https://doi.org/10.1159/000492853>
- Ferguson, S. W., & Nguyen, J. (2016). Exosomes as therapeutics: The implications of molecular composition and exosomal heterogeneity. *Journal Of Controlled Release*, 228, 179–190. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.02.037>
- Figueira, I., Bastos, P., González-Sarriás, A., Espín, J. C., Costa-Silva, B., & Nunes Dos Santos, C. (2023). Can exosomes transfer the preconditioning effects triggered by (poly)phenol compounds between cells?. *Food & Function*, 14(1), 15–31. <https://doi.org/10.1039/d2fo00876a>
- Fitts, C. A., Ji, N., Li, Y., & Tan, C. (2019). Exploiting exosomes in cancer liquid biopsies and drug delivery. *Advanced Healthcare Materials*, 8(6), e1801268. <https://doi.org/10.1002/adhm.201801268>
- Flanagan, E., Müller, M., Hornberger, M., & Vauzour, D. (2018). Impact of Flavonoids on Cellular and Molecular Mechanisms Underlying Age-Related Cognitive Decline and Neurodegeneration. *Current Nutrition Reports*, 7(2), 49–57. <https://doi.org/10.1007/s13668-018-0226-1>

- Flint H. J. (2012). The impact of nutrition on the human microbiome. *Nutrition Reviews*, 70(1), S10–S13. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00499.x>
- Flint, H. J., Scott, K. P., Duncan, S. H., Louis, P., & Forano, E. (2012). Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes*, 3(4), 289–306. <https://doi.org/10.4161/gmic.19897>
- Fong, M. Y., Zhou, W., Liu, L., Alontaga, A. Y., Chandra, M., Ashby, J., Chow, A., O'Connor, S. T., Li, S., Chin, A. R., Somlo, G., Palomares, M., Li, Z., Tremblay, J. R., Tsuyada, A., Sun, G., Reid, M. A., Wu, X., Swiderski, P., Ren, X., ... Wang, S. E. (2015). Breast-cancer-secreted miR-122 reprograms glucose metabolism in premetastatic niche to promote metastasis. *Nature Cell Biology*, 17(2), 183–194. <https://doi.org/10.1038/ncb3094>
- Fonteles, T. V., & Rodrigues, S. (2018). Prebiotic in fruit juice: Processing challenges, advances, and perspectives. *Current Opinion in Food Science*, 22, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.02.001>
- Frankenfeld C. L. (2011). O-desmethylangolensin: the importance of equol's lesser-known cousin to human health. *Advances in nutrition*, 2(4), 317–324. <https://doi.org/10.3945/an.111.000539>
- Frankenfeld C. L. (2017). Cardiometabolic risk and gut microbial phytoestrogen metabolite phenotypes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(1). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500900>
- Frankenfeld, C. L., Atkinson, C., Thomas, W. K., Gonzalez, A., Jokela, T., Wähälä, K., Schwartz, S. M., Li, S. S., & Lampe, J. W. (2005). High concordance of daidzein-metabolizing phenotypes in individuals measured 1 to 3 years apart. *The British Journal Of Nutrition*, 94(6), 873–876. <https://doi.org/10.1079/bjn20051565>
- Frankenfeld, C. L., Atkinson, C., Wähälä, K., & Lampe, J. W. (2014). Obesity prevalence in relation to gut microbial environments capable of producing equol or O-desmethylangolensin from the isoflavone daidzein. *European Journal Of Clinical Nutrition*, 68(4), 526–530. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2014.23>
- Frankenfeld, C. L., Maskarinec, G., & Franke, A. A. (2022). Metabolomics profiles of premenopausal women are different based on O-desmethylangolensin metabolite. *The British Journal Of Nutrition*, 128(8), 1490–1498. <https://doi.org/10.1017/S0007114521004463>
- Fulde, M., & Hornef, M. W. (2014). Maturation of the enteric mucosal innate immune system during the postnatal period. *Immunological Reviews*, 260(1), 21–34. <https://doi.org/10.1111/imr.12190>
- Funabashi, M., Grove, T. L., Wang, M., Varma, Y., McFadden, M. E., Brown, L. C., Guo, C., Higginbottom, S., Almo, S. C., & Fischbach, M. A. (2020). A metabolic pathway for bile acid dehydroxylation by the gut microbiome. *Nature*, 582(7813), 566–570. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2396-4>
- Gallart-Palau, X., Guo, X., Serra, A., & Sze, S. K. (2020). Alzheimer's disease progression characterized by alterations in the molecular profiles and biogenesis of brain extracellular vesicles. *Alzheimer's Research & Therapy*, 12(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s13195-020-00623-4>

- Gao, J., Guo, X., Wei, W., Li, R., Hu, K., Liu, X., Jiang, W., Liu, S., Wang, W., Sun, H., Wu, H., Zhang, Y., Gu, W., Li, Y., Sun, C., & Han, T. (2021). The association of fried meat consumption with the gut microbiota and fecal metabolites and its impact on glucose homoeostasis, intestinal endotoxin levels, and systemic inflammation: a randomized controlled-feeding trial. *Diabetes Care*, 44(9), 1970–1979. <https://doi.org/10.2337/dc21-0099>
- García-Conesa, M. T., Chambers, K., Combet, E., Pinto, P., García-Aloy, M., Andrés-Lacueva, C., de Pascual-Teresa, S., Mena, P., Konic Ristic, A., Hollands, W. J., Kroon, P. A., Rodríguez-Mateos, A., Istas, G., Kontogiorgis, C. A., Rai, D. K., Gibney, E. R., Morand, C., Espín, J. C., & González-Sarriás, A. (2018). Meta-analysis of the effects of foods and derived products containing ellagitannins and anthocyanins on cardiometabolic biomarkers: analysis of factors influencing variability of the individual responses. *International Journal Of Molecular Sciences*, 19(3), 694. <https://doi.org/10.3390/ijms19030694>
- García-Mantrana, I., Calatayud, M., Romo-Vaquero, M., Espín, J. C., Selma, M. V., & Collado, M. C. (2019). Urolithin metabotypes can determine the modulation of gut microbiota in healthy individuals by tracking walnuts consumption over three days. *Nutrients*, 11(10), 2483. <https://doi.org/10.3390/nu11102483>
- García-Mateos, D., García-Villalba, R., Otero, J. A., Marañón, J. A., Espín, J. C., Álvarez, A. I., & Merino, G. (2018). An altered tissue distribution of flaxseed lignans and their metabolites in Abcg2 knockout mice. *Food & Function*, 9(1), 636–642. <https://doi.org/10.1039/c7fo01549f>
- García-Seisdedos, D., Babiy, B., Lerma, M., Casado, M. E., Martínez-Botas, J., Lasunción, M. A., Pastor, Ó., & Busto, R. (2020). Curcumin stimulates exosome/microvesicle release in an *in vitro* model of intracellular lipid accumulation by increasing ceramide synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865, 158638. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158638>
- García-Villalba, R., , Beltrán, D., , Frutos, M. D., , Selma, M. V., , Espín, J. C., , & Tomás-Barberán, F. A., (2020). Metabolism of different dietary phenolic compounds by the urolithin-producing human-gut bacteria *Gordonibacter urolithinifaciens* and *Ellagibacter isourolithinifaciens*. *Food & Function*, 11(8), 7012–7022. <https://doi.org/10.1039/d0fo01649g>
- García-Villalba, R., Beltrán, D., Espín, J. C., Selma, M. V., & Tomás-Barberán, F. A. (2013). Time course production of urolithins from ellagic acid by human gut microbiota. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 61(37), 8797–8806. <https://doi.org/10.1021/jf402498b>
- García-Villalba, R., Espín, J. C., & Tomás-Barberán, F. A. (2016). Chromatographic and spectroscopic characterization of urolithins for their determination in biological samples after the intake of foods containing ellagitannins and ellagic acid. *Journal Of Chromatography A*, 1428, 162–175. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.08.044>
- García-Villalba, R., Giménez-Bastida, J. A., Cortés-Martín, A., Ávila-Gálvez, M. Á., Tomás-Barberán, F. A., Selma, M. V., Espín, J. C., & González-Sarriás, A. (2022). Urolithins: a comprehensive update on their metabolism, bioactivity, and associated gut microbiota. *Molecular Nutrition & Food Research*, 66(21), e2101019. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202101019>
- García-Villalba, R., Selma, M. V., Espín, J. C., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). Identification of novel urolithin metabolites in human feces and urine after the intake of a pomegranate extract.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(40), 11099–11107. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b04435>
- García-Villalba, R., Vissenaekens, H., Pitart, J., Romo-Vaquero, M., Espín, J. C., Grootaert, C., Selma, M. V., Raes, K., Smagghe, G., Possemiers, S., Van Camp, J., & Tomás-Barberán, F. A. (2017). Gastrointestinal simulation model TWIN-SHIME shows differences between human urolithin-metabotypes in gut microbiota composition, pomegranate polyphenol metabolism, and transport along the intestinal tract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(27), 5480–5493. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02049>
- Gee, J. M., DuPont, M. S., Rhodes, M. J., & Johnson, I. T. (1998). Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. *Free Radical Biology and Medicine*, 25(1), 19–25. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00020-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00020-3)
- Ghosh, A., Davey, M., Chute, I. C., Griffiths, S. G., Lewis, S., Chacko, S., Barnett, D., Crapoulet, N., Fournier, S., Joy, A., Caissie, M. C., Ferguson, A. D., Daigle, M., Meli, M. V., Lewis, S. M., & Ouellette, R. J. (2014). Rapid isolation of extracellular vesicles from cell culture and biological fluids using a synthetic peptide with specific affinity for heat shock proteins. *Plos One*, 9(10), e110443. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110443>
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: the international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Giménez-Bastida, J. A., Ávila-Gálvez, M. Á., Espín, J. C., & González-Sarriás, A. (2019). Conjugated physiological resveratrol metabolites induce senescence in breast cancer cells: role of p53/p21 and p16/rb pathways, and ABC transporters. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(22), e1900629. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900629>
- Gomaa E. Z. (2020). Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: A review. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 113(12), 2019–2040. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01474-7>
- Gong, Q. Y., Cai, L., Jing, Y., Wang, W., Yang, D. X., Chen, S. W., & Tian, H. L. (2022). Urolithin A alleviates blood-brain barrier disruption and attenuates neuronal apoptosis following traumatic brain injury in mice. *Neural Regeneration Research*, 17(9), 2007–2013. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.335163>
- Gonthier, M. P., Remesy, C., Scalbert, A., Cheynier, V., Souquet, J. M., Poutanen, K., & Aura, A. M. (2006). Microbial metabolism of caffeic acid and its esters chlorogenic and caftaric acids by human faecal microbiota *in vitro*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60(9), 536–540. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2006.07.084>
- González-Rodríguez, I., Gaspar, P., Sánchez, B., Gueimonde, M., Margolles, A., & Neves, A. R. (2013). Catabolism of glucose and lactose in *Bifidobacterium animalis* subsp. Lactis, studied by 13c nuclear magnetic resonance. *Applied And Environmental Microbiology*, 79(24), 7628–7638. <https://doi.org/10.1128/AEM.02529-13>
- González-Sarriás, A., Combet, E., Pinto, P., Mena, P., Dall'Asta, M., Garcia-Aloy, M., Rodríguez-Mateos, A., Gibney, E. R., Dumont, J., Massaro, M., Sánchez-Meca, J., Morand, C., & García-

- Conesa, M. T. (2017a). A systematic review and meta-analysis of the effects of flavanol-containing tea, cocoa and apple products on body composition and blood lipids: exploring the factors responsible for variability in their efficacy. *Nutrients*, 9(7), 746. <https://doi.org/10.3390/nu9070746>
- González-Sarriás, A., Espín-Aguilar, J. C., Romero-Reyes, S., Puigcerver, J., Alajarín, M., Berná, J., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2022). Main determinants affecting the antiproliferative activity of stilbenes and their gut microbiota metabolites in colon cancer cells: a structure-activity relationship study. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(23), 15102. <https://doi.org/10.3390/ijms232315102>
- González-Sarriás, A., García-Villalba, R., Romo-Vaquero, M., Alasalvar, C., Örem, A., Zafrilla, P., Tomás-Barberán, F. A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2017b). Clustering according to urolithin metabotype explains the interindividual variability in the improvement of cardiovascular risk biomarkers in overweight-obese individuals consuming pomegranate: A randomized clinical trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(5). 10.1002/mnfr.201600830. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600830>
- González-Sarriás, A., Giménez-Bastida, J. A., García-Conesa, M. T., Gómez-Sánchez, M. B., García-Talavera, N. V., Gil-Izquierdo, A., Sánchez-Álvarez, C., Fontana-Compiano, L. O., Morga-Egea, J. P., Pastor-Quirante, F. A., Martínez-Díaz, F., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2010). Occurrence of urolithins, gut microbiota ellagic acid metabolites and proliferation markers expression response in the human prostate gland upon consumption of walnuts and pomegranate juice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(3), 311–322. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900152>
- González-Sarriás, A., Giménez-Bastida, J. A., Núñez-Sánchez, M. Á., Larrosa, M., García-Conesa, M. T., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2014). Phase-II metabolism limits the antiproliferative activity of urolithins in human colon cancer cells. *European Journal Of Nutrition*, 53(3), 853–864. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0589-4>
- González-Sarriás, A., Núñez-Sánchez, M. A., Ávila-Gálvez, M. A., Monedero-Saiz, T., Rodríguez-Gil, F. J., Martínez-Díaz, F., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2018a). Consumption of pomegranate decreases plasma lipopolysaccharide-binding protein levels, a marker of metabolic endotoxemia, in patients with newly diagnosed colorectal cancer: A randomized controlled clinical trial. *Food & Function*, 9(5), 2617–2622. <https://doi.org/10.1039/c8fo00264a>
- González-Sarriás, A., Romo-Vaquero, M., García-Villalba, R., Cortés-Martín, A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2018b). The endotoxemia marker lipopolysaccharide-binding protein is reduced in overweight-obese subjects consuming pomegranate extract by modulating the gut microbiota: a randomized clinical trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 62(11), e1800160. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800160>
- Goodrich, J. K., Waters, J. L., Poole, A. C., Sutter, J. L., Koren, O., Blekhman, R., Beaumont, M., Van Treuren, W., Knight, R., Bell, J. T., Spector, T. D., Clark, A. G., & Ley, R. E. (2014). *Human Genetics Shape The Gut Microbiome*. *Cell*, 159(4), 789–799. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.053>
- Gosalbes, M. J., Llop, S., Vallès, Y., Moya, A., Ballester, F., & Francino, M. P. (2013). Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clinical And Experimental Allergy: Journal*

- Of The British Society For Allergy And Clinical Immunology*, 43(2), 198–211. <https://doi.org/10.1111/cea.12063>.
- Gourbeyre, P., Denery, S., & Bodinier, M. (2011). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. *Journal Of Leukocyte Biology*, 89(5), 685–695. <https://doi.org/10.1189/jlb.1109753>
- Gowd, V., Karim, N., Shishir, M. R. I., Xie, L., & Chen, W. (2019). Dietary polyphenols to combat the metabolic diseases via altering gut microbiota. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.005>.
- Grandclément, C., Tannières, M., Moréra, S., Dessaux, Y., & Faure, D. (2016). Quorum quenching: role in nature and applied developments. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(1), 86–116. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuv038>
- Gross, J. (1987). In *Pigments in Fruits*; Schweigert, B. S., Ed.; Academic Press: London, U.K.
- Grosso, G., Godos, J., Lamuela-Raventos, R., Ray, S., Micek, A., Pajak, A., Sciacca, S., D'Orazio, N., Del Rio, D., & Galvano, F. (2017). A comprehensive meta-analysis on dietary flavonoid and lignan intake and cancer risk: Level of evidence and limitations. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(4), 10.1002/mnfr.201600930. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600930>
- Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Silva, R., Rocha, R. S., Graça, J. S., Esmerino, E. A.,...Cruz, A. G. (2020). Impact of probiotics and prebiotics on food texture. *Current Opinion in Food Science*, 33, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.002>
- Günther, I., Rimbach, G., Mack, C. I., Weinert, C. H., Danylec, N., Lüersen, K., Birringer, M., Bracher, F., Soukup, S. T., Kulling, S. E., & Pallauf, K. (2020). The putative caloric restriction mimetic resveratrol has moderate impact on insulin sensitivity, body composition, and the metabolome in mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 64(6), e1901116. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201901116>
- Gurung, S., Perocheau, D., Touramanidou, L., & Baruteau, J. (2021). The exosome journey: from biogenesis to uptake and intracellular signalling. *Cell Communication And Signaling: CCS*, 19(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s12964-021-00730-1>
- Haiser, H. J., Gootenberg, D. B., Chatman, K., Sirasani, G., Balskus, E. P., & Turnbaugh, P. J. (2013). Predicting and manipulating cardiac drug inactivation by the human gut bacterium *Eggerthella lenta*. *Science*, 341(6143), 295–298. <https://doi.org/10.1126/science.1235872>.
- Harahap, I. A., & Suliburska, J. (2021). Probiotics and isoflavones as a promising therapeutic for calcium status and bone health: a narrative review. *Foods*, 10(11), 2685. <https://doi.org/10.3390/foods10112685>
- Harbi, S. M., Hussien, R. A., Hawasawi, I., Alshdoukhi, I., Chopra, V., Alanazi, A. N., Butler, W., Koroma, R., Peters, C., Garver, D. D., & Vinson, J. A. (2020). Red blood cells and lipoproteins: important reservoirs and transporters of polyphenols and their metabolites. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 68(26), 7005–7013. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02601>
- Harborne J. B., Mabry T. J. (1982). *The flavonoids: advances in research*. London: Chapman and Hall.

- Hatcher, D. W., Kruger, J. E. (1997). Simple phenolic acids in flours prepared from Canadian wheat: relationship to ash content, color, and polyphenol oxidase activity. *Cereal Chemistry*, 74, 337–43. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1997.74.3.337>
- Haudum, C., Lindheim, L., Ascani, A., Trummer, C., Horvath, A., Münzker, J., & Obermayer-Pietsch, B. (2020). Impact of short-term isoflavone intervention in polycystic ovary syndrome (PCOS) patients on microbiota composition and metagenomics. *Nutrients*, 12(6), 1622. <https://doi.org/10.3390/nu12061622>
- Hausenblas, H. A., Schoulda, J. A., & Smoliga, J. M. (2015). Resveratrol treatment as an adjunct to pharmacological management in type 2 diabetes mellitus--systematic review and meta-analysis. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(1), 147–159. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400173>
- Havenaar, R., & Huis In't Veld, J. M. J. (1992). Lactic acid bacteria in health and disease vol. 1 (151–170). Elsevier Applied Science Publishers.
- Havlik, J., Marinello, V., Gardyne, A., Hou, M., Mullen, W., Morrison, D. J., Preston, T., Combet, E., & Edwards, C. A. (2020). Dietary fibres differentially impact on the production of phenolic acids from rutin in an *in vitro* fermentation model of the human gut microbiota. *Nutrients*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/nu12061577>.
- Hazas, M.L., Godinho-Pereira, J., Macià, A., Almeida, A.F., Ventura, M.R., Motilva, M., & Santos, C.N. (2018). Brain uptake of hydroxytyrosol and its main circulating metabolites: Protective potential in neuronal cells. *Journal of Functional Foods*. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.028>
- Hazim, S., Curtis, P. J., Schär, M. Y., Ostertag, L. M., Kay, C. D., Minihane, A. M., & Cassidy, A. (2016). Acute benefits of the microbial-derived isoflavone metabolite equol on arterial stiffness in men prospectively recruited according to equol producer phenotype: a double-blind randomized controlled trial. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 103(3), 694–702. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.125690>
- He, J., Magnuson, B. A., Giusti, M. M. (2005). Analysis of anthocyanins in rat intestinal contents--impact of anthocyanin chemical structure on fecal excretion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 2859–2866. <https://doi.org/10.1021/jf0479923>.
- Heilman, J., Andreux, P., Tran, N., Rinsch, C., & Blanco-Bose, W. (2017). Safety assessment of Urolithin A, a metabolite produced by the human gut microbiota upon dietary intake of plant derived ellagitannins and ellagic acid. *Food And Chemical Toxicology*, 108, 289–297. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.050>
- Heinonen, S. M., Hoikkala, A., Wähälä, K., & Adlercreutz, H. (2003). Metabolism of the soy isoflavones daidzein, genistein and glycitein in human subjects. Identification of new metabolites having an intact isoflavonoid skeleton. *The Journal Of Steroid Biochemistry And Molecular Biology*, 87(4-5), 285–299. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2003.09.003>
- Heinonen, S., Wähälä, K., & Adlercreutz, H. (1999). Identification of isoflavone metabolites dihydrodaidzein, dihydrogenistein, 6'-OH-O-dma, and cis-4-OH-equol in human urine by gas chromatography-mass spectroscopy using authentic reference compounds. *Analytical Biochemistry*, 274(2), 211–219. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4279>

- Hertog M. G. (1996). Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 55(1B), 385–397. <https://doi.org/10.1079/pns19960037>
- Hervert-Hernández D. & Goñi I. (2011). Dietary polyphenols and human gut microbiota: a review. *Food Reviews International*, 27:2, 154-169. <https://doi.org/10.1080/87559129.2010.535233>
- Hessvik, N. P., & Llorente, A. (2018). Current knowledge on exosome biogenesis and release. *Cellular And Molecular Life Sciences*, 75(2), 193–208. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2595-9>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Hollman, P. C., & Katan, M. B. (1997). Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 51(8), 305–310. [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(97\)88045-6](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(97)88045-6)
- Hollman, P. C., & Katan, M. B. (1999). Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9-10), 937–942. [https://doi.org/10.1016/s0278-6915\(99\)00079-4](https://doi.org/10.1016/s0278-6915(99)00079-4)
- Hollman, P. C., de Vries, J. H., van Leeuwen, S. D., Mengelers, M. J., & Katan, M. B. (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62(6), 1276–1282. <https://doi.org/10.1093/ajcn/62.6.1276>
- Holscher H. D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes*, 8(2), 172–184. <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756>
- Hong, S. J., Kim, S. I., Kwon, S. M., Lee, J. R., & Chung, B. C. (2002). Comparative study of concentration of isoflavones and lignans in plasma and prostatic tissues of normal control and benign prostatic hyperplasia. *Yonsei Medical Journal*, 43(2), 236–241. <https://doi.org/10.3349/ymj.2002.43.2.236>
- Hooper, L., Kay, C., Abdelhamid, A., Kroon, P. A., Cohn, J. S., Rimm, E. B., & Cassidy, A. (2012). Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *American Journal of Clinical Nutrition*, 95(3), 740–751. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.023457>
- Horn, P., Amabile, N., Angeli, F. S., Sansone, R., Stegemann, B., Kelm, M., Springer, M. L., Yeghiazarians, Y., Schroeter, H., & Heiss, C. (2014). Dietary flavanol intervention lowers the levels of endothelial microparticles in coronary artery disease patients. *The British Journal Of Nutrition*, 111(7), 1245–1252. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003693>
- Hoseini, A., Namazi, G., Farrokhian, A., Reiner, Ž., Aghadavod, E., Bahmani, F., & Asemi, Z. (2019). The effects of resveratrol on metabolic status in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Food & Function*, 10(9), 6042–6051. <https://doi.org/10.1039/c9fo01075k>

- Hou, R., Li, Y., Sui, Z., Yuan, H., Yang, K., Liang, Z., Zhang, L., & Zhang, Y. (2019). Advances in exosome isolation methods and their applications in proteomic analysis of biological samples. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, 411(21), 5351–5361. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-01982-0>
- Howitt, J., Hill, A.F. (2016). Exosomes in the pathology of neurodegenerative diseases. *Journal of Biological Chemistry*, 291, 26589–26597. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.757955>.
- Huang, I. F., Lin, I. C., Liu, P. F., Cheng, M. F., Liu, Y. C., Hsieh, Y. D., Chen, J. J., Chen, C. L., Chang, H. W., & Shu, C. W. (2015). *Lactobacillus acidophilus* attenuates *Salmonella*-induced intestinal inflammation via TGF- β signaling. *BMC Microbiology*, 15, 203. <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0546-x>
- Huang, Y., Cheng, L., Turchinovich, A., Mahairaki, V., Troncoso, J. C., Pletniková, O., Haughey, N. J., Vella, L. J., Hill, A. F., Zheng, L., & Witwer, K. W. (2020). Influence of species and processing parameters on recovery and content of brain tissue-derived extracellular vesicles. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 9(1), 1785746. <https://doi.org/10.1080/20013078.2020.1785746>
- Huang, T., Li, Z., Tye, K. D., Chan, S. N., Tang, X., Luo, H., Wang, D., Zhou, J., Duan, X., & Xiao, X. (2022). Probiotic supplementation during pregnancy alters gut microbial networks of pregnant women and infants. *Frontiers In Microbiology*, 13, 1042846. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1042846>
- Human Microbiome Project Consortium (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207–214. <https://doi.org/10.1038/nature11234>.
- Hutchins, A. M., Slavin, J. L., & Lampe, J. W. (1995). Urinary isoflavonoid phytoestrogen and lignan excretion after consumption of fermented and unfermented soy products. *Journal of the American Dietetic Association*, 95(5), 545–551. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(95\)00149-2](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(95)00149-2).
- Hwang, D., & Lim, Y. H. (2015). Resveratrol antibacterial activity against *Escherichia coli* is mediated by Z-ring formation inhibition via suppression of FtsZ expression. *Scientific Reports*, 5, 10029. <https://doi.org/10.1038/srep10029>
- Ijssennagger, N., Belzer, C., Hooiveld, G. J., Dekker, J., van Mil, S. W., Müller, M., Kleerebezem, M., & van der Meer, R. (2015). Gut microbiota facilitates dietary heme-induced epithelial hyperproliferation by opening the mucus barrier in colon. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(32), 10038–10043. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507645112>.
- Ishiwata, N., Melby, M. K., Mizuno, S., & Watanabe, S. (2009). New equol supplement for relieving menopausal symptoms: randomized, placebo-controlled trial of Japanese women. *Menopause*, 16(1), 141–148. <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e31818379fa>
- Istas, G., Feliciano, R. P., Weber, T., García-Villalba, R., Tomás-Barberán, F., Heiss, C., & Rodríguez-Mateos, A. (2018). Plasma urolithin metabolites correlate with improvements in endothelial function after red raspberry consumption: A double-blind randomized controlled trial. *Archives Of Biochemistry And Biophysics*, 651, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.05.016>

- Ivanov, V., Carr, A. C., & Frei, B. (2001). Red wine antioxidants bind to human lipoproteins and protect them from metal ion-dependent and -independent oxidation. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49(9), 4442–4449. <https://doi.org/10.1021/jf010117m>
- Iwasaki, M., Akiba, Y., & Kaunitz, J. D. (2019). Duodenal chemosensing of short-chain fatty acids: implications for GI diseases. *Current Gastroenterology Reports*, 21(8), 35. <https://doi.org/10.1007/s11894-019-0702-9>
- Izumi, T., Piskula, M. K., Osawa, S., Obata, A., Tobe, K., Saito, M., Kataoka, S., Kubota, Y., & Kikuchi, M. (2000). Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *Journal of Nutrition*, 130(7), 1695–1699. <https://doi.org/10.1093/jn/130.7.1695>.
- Jackman, R. L., Smith, J. L. (1996). Anthocyanins and betalains. In Natural Food Colorants, 2nd ed.; Hendry, G. A. F., Houghton, J. D., Eds.; Blackie Academic And Professional; Glasgow, U.K., 244–280.
- Jarosova, V., Vesely, O., Marsik, P., Jaimes, J. D., Smejkal, K., Kloucek, P., & Havlik, J. (2019). Metabolism of stilbenoids by human faecal microbiota. *Molecules*, 24(6), 1155. <https://doi.org/10.3390/molecules24061155>
- Jenks, B. H., Iwashita, S., Nakagawa, Y., Ragland, K., Lee, J., Carson, W. H., Ueno, T., & Uchiyama, S. (2012). A pilot study on the effects of S-equol compared to soy isoflavones on menopausal hot flash frequency. *Journal Of Women's Health*, 21(6), 674–682. <https://doi.org/10.1089/jwh.2011.3153>
- Jeong, E. J., Liu, X., Jia, X., Chen, J., Hu, M. (2005). Coupling of conjugating enzymes and efflux transporters: impact on bioavailability and drug interactions. *Current Drug Metabolism*, 6(5), 455–468. <https://doi.org/10.2174/138920005774330657>.
- Jeyaram, A., & Jay, S. M. (2017). Preservation and storage stability of extracellular vesicles for therapeutic applications. *The AAPS Journal*, 20(1), 1. <https://doi.org/10.1208/s12248-017-0160-y>
- Jiménez-Loygorri, J.I., Villarejo-Zori, B., Viedma-Poyatos, A., Zapata-Muñoz, J., Benítez-Fernández, R., Frutos-Lisón, M.D., Tomás-Barberán, F.A., Espín, J.C., Area-Gómez, E., Gómez-Duran, A. & Boya, P. (2023). Mitophagy curtails cytosolic mtDNA-dependent activation of cGAS/STING inflammation during aging. *Nature Communications (Aceptado)* (NCOMMS-23-17440A).
- Jin, J. S., Kitahara, M., Sakamoto, M., Hattori, M. & Benno, Y. (2010). *Slackia equolifaciens* sp. nov., a human intestinal bacterium capable of producing equol. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 60, 1721–1724. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.016774-0>
- Jin, Y., Li, P., & Wang, F. (2018). β -glucans as potential immunoadjuvants: A review on the adjuvanticity, structure-activity relationship and receptor recognition properties. *Vaccine*, 36(35), 5235–5244. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.07.038>
- Jin, J. S., & Hattori, M. (2010). Human intestinal bacterium, strain END-2 is responsible for demethylation as well as lactonization during plant lignan metabolism. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 33(8), 1443–1447. <https://doi.org/10.1248/bpb.33.1443>

- Jin, J. S., Kakiuchi, N., & Hattori, M. (2007). Enantioselective oxidation of enterodiol to enterolactone by human intestinal bacteria. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 30(11), 2204–2206. <https://doi.org/10.1248/bpb.30.2204>
- Jing, G., Zhang, Y., Liu, L., Wang, Z., Sun, Z., Knight, R., Su, X., & Xu, J. (2021). A scale-free, fully connected global transition network underlies known microbiome diversity. *mSystems*, 6(4), e0039421. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00394-21>
- Joyce, G. F., & Szostak, J. W. (2018). Protocells and RNA self-replication. *Cold Spring Harbor Perspectives In Biology*, 10(9), a034801. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a034801>
- Jung, C. M., Heinze, T. M., Schnackenberg, L. K., Mullis, L. B., Elkins, S. A., Elkins, C. A., Steele, R. S., & Sutherland, J. B. (2009). Interaction of dietary resveratrol with animal-associated bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 297(2), 266–273. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01691.x>
- Jurkiewicz, D., & Zielnik-Jurkiewicz, B. (2018). Bacterial lysates in the prevention of respiratory tract infections. *The Polish otolaryngology*, 72(5), 1–8. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.7216>
- Kahlert, C., & Kalluri, R. (2013). Exosomes in tumor microenvironment influence cancer progression and metastasis. *Journal Of Molecular Medicine*, 91(4), 431–437. <https://doi.org/10.1007/s00109-013-1020-6>
- Kalluri R. (2016). The biology and function of exosomes in cancer. *The Journal Of Clinical Investigation*, 126(4), 1208–1215. <https://doi.org/10.1172/JCI81135>
- Kalluri, R., & LeBleu, V. S. (2020). The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 367, eaau6977. <https://doi.org/10.1126/science.aau6977>
- Kamada, N., Chen, G. Y., Inohara, N., & Núñez, G. (2013). Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nature Immunology*, 14(7), 685–690. <https://doi.org/10.1038/ni.2608>
- Kamerkar, S., LeBleu, V. S., Sugimoto, H., Yang, S., Ruivo, C. F., Melo, S. A., Lee, J. J., & Kalluri, R. (2017). Exosomes facilitate therapeutic targeting of oncogenic KRAS in pancreatic cancer. *Nature*, 546(7659), 498–503. <https://doi.org/10.1038/nature22341>
- Kanauchi, O., Andoh, A., AbuBakar, S., & Yamamoto, N. (2018). Probiotics and paraprobiotics in viral infection: clinical application and effects on the innate and acquired immune systems. *Current Pharmaceutical Design*, 24(6), 710–717. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180116163411>
- Kandimalla, R., Aqil, F., Alhakeem, S.S., Jeyabalan, J., Tyagi, N., Agrawal, A., Yan, J., Spencer, W., Bondada, S., Gupta, R.C. (2021). Targeted oral delivery of paclitaxel using colostrum-derived exosomes. *Cancers*, 13, 3700. <https://doi.org/10.3390/cancers13153700>
- Kapetanovic, I. M., Muzzio, M., Huang, Z., Thompson, T. N., & McCormick, D. L. (2011). Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog, pterostilbene, in rats. *Cancer Chemotherapy And Pharmacology*, 68(3), 593–601. <https://doi.org/10.1007/s00280-010-1525-4>
- Kapogiannis, D., Fiandaca, M. S., Mapstone, M., Boxer, A., Eitan, E., Schwartz, J. B., ... & Goetzl, E. J. (2014). DT-01-04: Pathogenic proteins in neurally-derived blood exosomes as near-perfect

- diagnostic and prognostic biomarkers for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, P281-P281. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.07.152>
- Karimi, N., Cvjetkovic, A., Jang, S. C., Crescitelli, R., Hosseinpour Feizi, M. A., Nieuwland, R., Lötval, J., & Lässer, C. (2018). Detailed analysis of the plasma extracellular vesicle proteome after separation from lipoproteins. *Cellular And Molecular Life Sciences*, 75(15), 2873–2886. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2773-4>
- Kashyap, P., Shikha, D., Thakur, M., & Aneja, A. (2022). Functionality of apigenin as a potent antioxidant with emphasis on bioavailability, metabolism, action mechanism and *in vitro* and *in vivo* studies: A review. *Journal Of Food Biochemistry*, 46(4), e13950. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13950>
- Kawabata, K., Yoshioka, Y., & Terao, J. (2019). Role of intestinal microbiota in the bioavailability and physiological functions of dietary polyphenols. *Molecules*, 24(2), 370. <https://doi.org/10.3390/molecules24020370>
- Kay, C. D., Pereira-Caro, G., Ludwig, I. A., Clifford, M. N., & Crozier, A. (2017). Anthocyanins and flavanones are more bioavailable than previously perceived: a review of recent evidence. *Annual Review Of Food Science And Technology*, 8, 155–180. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-025636>
- Keerthikumar, S., Chisanga, D., Ariyaratne, D., Al Saffar, H., Anand, S., Zhao, K., Samuel, M., Pathan, M., Jois, M., Chilamkurti, N., Gangoda, L., & Mathivanan, S. (2016). ExoCarta: a web-based compendium of exosomal cargo. *Journal Of Molecular Biology*, 428(4), 688–692. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.09.019>
- Keller, S., Sanderson, M. P., Stoeck, A., & Altevogt, P. (2006). Exosomes: From biogenesis and secretion to biological function. *Immunology Letters*, 107, 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2006.09.005>
- Kennedy, J. A., & Jones, G. P. (2001). Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 49(4), 1740–1746. <https://doi.org/10.1021/jf001030o>
- Kerimi, A., Kraut, N. U., da Encarnacao, J. A., & Williamson, G. (2020). The gut microbiome drives inter- and intra-individual differences in metabolism of bioactive small molecules. *Scientific Reports*, 10(1), 19590. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76558-5>
- Kim, M. S., Haney, M. J., Zhao, Y., Mahajan, V., Deygen, I., Klyachko, N. L., Inskoe, E., Piroyan, A., Sokolsky, M., Okolie, O., Hingtgen, S. D., Kabanov, A. V., & Batrakova, E. V. (2016). Development of exosome-encapsulated paclitaxel to overcome MDR in cancer cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, And Medicine*, 12(3), 655–664. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.10.012>
- King, H. G. C. (1962). Phenolic compounds of commercial wheat germ. *Journal of Food Science*, 27, 446–454. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1962.tb00125.x>
- Koeth, R. A., Wang, Z., Levison, B. S., Buffa, J. A., Org, E., Sheehy, B. T., Britt, E. B., Fu, X., Wu, Y., Li, L., Smith, J. D., DiDonato, J. A., Chen, J., Li, H., Wu, G. D., Lewis, J. D., Warriar, M., Brown, J. M., Krauss, R. M., Tang, W. H., ... Hazen, S. L. (2013). Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine,

- a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature Medicine*, 19(5), 576–585. <https://doi.org/10.1038/nm.3145>
- Koliha, N., Wiencek, Y., Heider, U., Jüngst, C., Kladt, N., Krauthäuser, S., Johnston, I. C., Bosio, A., Schauss, A., & Wild, S. (2016). A novel multiplex bead-based platform highlights the diversity of extracellular vesicles. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 5, 29975. <https://doi.org/10.3402/jev.v5.29975>
- Kolodziejczyk, A. A., Zheng, D., & Elinav, E. (2019). Diet-microbiota interactions and personalized nutrition. *Nature Reviews Microbiology*, 17(12), 742–753. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0256-8>
- Kondratyuk, T. P., Pezzuto, J. M. (2004). Natural product polyphenols of relevance to human health. *Pharmaceutical Biology*, 42, 46–63. <https://doi.org/10.3109/13880200490893519>.
- Konoshenko, M. Y., Lekchnov, E. A., Vlassov, A. V., & Laktionov, P. P. (2018). Isolation of extracellular vesicles: general methodologies and latest trends. *BioMed Research International*, 2018, 8545347. <https://doi.org/10.1155/2018/8545347>
- Koren, O., Goodrich, J. K., Cullender, T. C., Spor, A., Laitinen, K., Bäckhed, H. K., Gonzalez, A., Werner, J. J., Angenent, L. T., Knight, R., Bäckhed, F., Isolauri, E., Salminen, S., & Ley, R. E. (2012). Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell*, 150(3), 470–480. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.07.008>
- Koster, H., Halsema, I., Scholtens, E., Knippers, M., Mulder, G. J. (1981). Dose-dependent shifts in the sulfation and glucuronidation of phenolic compounds in the rat *in vivo* and in isolated hepatocytes. The role of saturation of phenolsulfotransferase. *Biochemical Pharmacology*, 30(18), 2569–2575. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(81\)90584-0](https://doi.org/10.1016/0006-2952(81)90584-0).
- Kostinek, M., Specht, I., Edward, V. A., Pinto, C., Egounlety, M., Sossa, C., Mbugua, S., Dortu, C., Thonart, P., Taljaard, L., Mengu, M., Franz, C. M., & Holzapfel, W. H. (2007). Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. *International Journal Of Food Microbiology*, 114(3), 342–351. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.029>
- Kowal, J., Arras, G., Colombo, M., Jouve, M., Morath, J. P., Primdal-Bengtson, B., Dingli, F., Loew, D., Tkach, M., & Théry, C. (2016). Proteomic comparison defines novel markers to characterize heterogeneous populations of extracellular vesicle subtypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(8), E968–E977. <https://doi.org/10.1073/pnas.1521230113>
- Krga, I., & Milenkovic, D. (2019). Anthocyanins: from sources and bioavailability to cardiovascular-health benefits and molecular mechanisms of action. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 67(7), 1771–1783. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06737>
- Křížová, L., Dadáková, K., Kašparovská, J., & Kašparovský, T. (2019). Isoflavones. *Molecules*, 24(6), 1076. <https://doi.org/10.3390/molecules24061076>
- Krumbeck, J. A., Rasmussen, H. E., Hutkins, R. W., Clarke, J., Shawron, K., Keshavarzian, A., & Walter, J. (2018). Probiotic *Bifidobacterium* strains and galactooligosaccharides improve intestinal

- barrier function in obese adults but show no synergism when used together as synbiotics. *Microbiome*, 6(1), 121. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0494-4>
- Kühnau J. (1976). The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Review Of Nutrition And Dietetics*, 24, 117–191.
- Kumar Singh, A., Cabral, C., Kumar, R., Ganguly, R., Kumar Rana, H., Gupta, A., Rosaria Lauro, M., Carbone, C., Reis, F., & Pandey, A. K. (2019). Beneficial effects of dietary polyphenols on gut microbiota and strategies to improve delivery efficiency. *Nutrients*, 11(9), 2216. <https://doi.org/10.3390/nu11092216>
- Kumar, L. R. G., Paul, P. T., Anas, K. K., Tejpal, C. S., Chatterjee, N. S., Anupama, T. K., Mathew, S., & Ravishankar, C. N. (2022). Phlorotannins-bioactivity and extraction perspectives. *Journal Of Applied Phycology*, 34(4), 2173–2185. <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02749-4>
- Kumar, N., & Goel, N. (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>
- Kwon, S. M., Kim, S. I., Chun, D. C., Cho, N. H., Chung, B. C., Park, B. W., Hong, S. J. (2001). Development of rat prostatitis model by oral administration of isoflavone and its characteristics. *Yonsei Medical Journal*, 42(4), 395–404. <https://doi.org/10.3349/ymj.2001.42.4.395>.
- Lacroix, R., Judicone, C., Poncelet, P., Robert, S., Arnaud, L., Sampol, J., & Dignat-George, F. (2012). Impact of pre-analytical parameters on the measurement of circulating microparticles: towards standardization of protocol. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 10(3), 437–446. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04610.x>.
- Lampe, J. W., Atkinson, C., & Hullar, M. A. (2006). Assessing exposure to lignans and their metabolites in humans. *Journal of AOAC International*, 89(4), 1174–1181. <https://doi.org/10.1093/jaoac/89.4.1174>.
- Langa, S., Peirotén, Á., Curiel, J. A., de la Bastida, A. R., & Landete, J. M. (2023). Isoflavone metabolism by lactic acid bacteria and its application in the development of fermented soy food with beneficial effects on human health. *Foods*, 12(6), 1293. <https://doi.org/10.3390/foods12061293>
- Larrosa, M., González-Sarrías, A., Yáñez-Gascón, M. J., Selma, M. V., Azorín-Ortuño, M., Toti, S., Tomás-Barberán, F., Dolara, P., & Espín, J. C. (2010). Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*, 21(8), 717–725. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.04.012>.
- Larrosa, M., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2006). The dietary hydrolysable tannin punicalagin releases ellagic acid that induces apoptosis in human colon adenocarcinoma Caco-2 cells by using the mitochondrial pathway. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*, 17(9), 611–625. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.09.004>
- Larrosa, M., Yáñez-Gascón, M. J., Selma, M. V., González-Sarrías, A., Toti, S., Cerón, J. J., Tomás-Barberán, F., Dolara, P., & Espín, J. C. (2009). Effect of a low dose of dietary resveratrol on colon microbiota, inflammation and tissue damage in a DSS-induced colitis rat model. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 57(6), 2211–2220. <https://doi.org/10.1021/jf803638d>

- Lasda, E., Parker, R. (2016). Circular RNAs co-precipitate with extracellular vesicles: A possible mechanism for circRNA clearance. *PLOS One*, 11, e0148407. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148407>
- Laverde Gomez, J. A., Mukhopadhyay, I., Duncan, S. H., Louis, P., Shaw, S., Collie-Duguid, E., Crost, E., Juge, N., & Flint, H. J. (2019). Formate cross-feeding and cooperative metabolic interactions revealed by transcriptomics in co-cultures of acetogenic and amylolytic human colonic bacteria. *Environmental Microbiology*, 21(1), 259–271. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14454>
- Lebeer, S., Bron, P. A., Marco, M. L., Van Pijkeren, J. P., O'Connell Motherway, M., Hill, C., Pot, B., Roos, S., & Klaenhammer, T. (2018). Identification of probiotic effector molecules: present state and future perspectives. *Current Opinion In Biotechnology*, 49, 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.10.007>
- Lebeer, S., Vanderleyden, J., & De Keersmaecker, S. C. (2010). Host interactions of probiotic bacterial surface molecules: comparison with commensals and pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 8(3), 171–184. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2297>
- Lederer, E. (1949). Chemistry and biochemistry of some mammalian secretions and excretions. *Journal Of The Chemical Society*, 2115–2125.
- Lee, M. J., Maliakal, P., Chen, L., Meng, X., Bondoc, F. Y., Prabhu, S., Lambert, G., Mohr, S., & Yang, C. S. (2002). Pharmacokinetics of tea catechins after ingestion of green tea and (-)-epigallocatechin-3-gallate by humans: formation of different metabolites and individual variability. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 11(10 Pt 1), 1025–1032.
- Lee, S. H., You, H. S., Kang, H. G., Kang, S. S., & Hyun, S. H. (2020). Association between altered blood parameters and gut microbiota after synbiotic intake in healthy, elderly Korean women. *Nutrients*, 12(10), 3112. <https://doi.org/10.3390/nu12103112>
- Leigh, J. A., & Dodsworth, J. A. (2007). Nitrogen regulation in bacteria and archaea. *Annual Review Of Microbiology*, 61, 349–377. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093409>
- Lener, T., Gimona, M., Aigner, L., Börger, V., Buzas, E., Camussi, G., Chaput, N., Chatterjee, D., Court, F. A., Del Portillo, H. A., O'Driscoll, L., Fais, S., Falcon-Perez, J. M., Felderhoff-Mueser, U., Fraile, L., Gho, Y. S., Görgens, A., Gupta, R. C., Hendrix, A., Hermann, D. M., ... Giebel, B. (2015). Applying extracellular vesicles-based therapeutics in clinical trials - an ISEV position paper. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 4, 30087. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.30087>
- Lépine, A., & de Vos, P. (2018). Synbiotic effects of the dietary fiber long-chain inulin and probiotic *Lactobacillus acidophilus* W37 can be caused by direct, synergistic stimulation of immune toll-like receptors and dendritic cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 62(15), e1800251. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800251>
- Lewis, J. D., Chen, E. Z., Baldassano, R. N., Otley, A. R., Griffiths, A. M., Lee, D., Bittinger, K., Bailey, A., Friedman, E. S., Hoffmann, C., Albenberg, L., Sinha, R., Compher, C., Gilroy, E., Nessel, L., Grant, A., Chehoud, C., Li, H., Wu, G. D., & Bushman, F. D. (2015). Inflammation, antibiotics, and diet as environmental stressors of the gut microbiome in pediatric Crohn's disease. *Cell Host & Microbe*, 18(4), 489–500. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.09.008>

- Ley R. (2022). The human microbiome: there is much left to do. *Nature*, 606(7914), 435. <https://doi.org/10.1038/d41586-022-01610-5>
- Ley, R.E., Bäckhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C.A., Knight, R.D., & Gordon, J.I. (2005). Ley, R. E., Bäckhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C. A., Knight, R. D., & Gordon, J. I. (2005). Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(31), 11070–11075. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504978102>
- Li, C., & Schluesener, H. (2017). Health-promoting effects of the citrus flavanone hesperidin. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 57(3), 613–631. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.906382>
- Li, F., Han, Y., Wu, X., Cao, X., Gao, Z., Sun, Y., Wang, M., & Xiao, H. (2022). Gut microbiota-derived resveratrol metabolites, dihydroresveratrol and lunularin, significantly contribute to the biological activities of resveratrol. *Frontiers In Nutrition*, 9, 912591. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.912591>
- Li, H., Christman, L. M., Li, R., Gu, L. (2020a). Synergic interactions between polyphenols and gut microbiota in mitigating inflammatory bowel diseases. *Food & Function*, 11(6), 4878–4891. <https://doi.org/10.1039/d0fo00713g>.
- Li, J., Jia, H., Cai, X., Zhong, H., Feng, Q., Sunagawa, S., Arumugam, M., Kultima, J. R., Prifti, E., Nielsen, T., Juncker, A. S., Manichanh, C., Chen, B., Zhang, W., Levenez, F., Wang, J., Xu, X., Xiao, L., Liang, S., Zhang, D., ... MetaHIT Consortium (2014). An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nature Biotechnology*, 32(8), 834–841. <https://doi.org/10.1038/nbt.2942>.
- Li, N., Wu, X., Zhuang, W., Xia, L., Chen, Y., Zhao, R., Yi, M., Wan, Q., Du, L., & Zhou, Y. (2020b). Soy and isoflavone consumption and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomized trials in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 64(4), e1900751. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201900751>
- Li, P., Kaslan, M., Lee, S. H., Yao, J., & Gao, Z. (2017). Progress in exosome isolation techniques. *Theranostics*, 7(3), 789–804. <https://doi.org/10.7150/thno.18133>
- Liang, A., Leonard, W., Beasley, J. T., Fang, Z., Zhang, P., & Ranadheera, C. S. (2023). Anthocyanins-gut microbiota-health axis: A review. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 1–26. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2187212>
- Liao, W., Du, Y., Zhang, C., Pan, F., Yao, Y., Zhang, T., & Peng, Q. (2019). Exosomes: The next generation of endogenous nanomaterials for advanced drug delivery and therapy. *Acta Biomaterialia*, 86, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.12.045>
- Linford, N. J., Dorsa, D. M. (2002). 17beta-Estradiol and the phytoestrogen genistein attenuate neuronal apoptosis induced by the endoplasmic reticulum calcium-ATPase inhibitor thapsigargin. *Steroids*, 67(13-14), 1029–1040. [https://doi.org/10.1016/s0039-128x\(02\)00062-4](https://doi.org/10.1016/s0039-128x(02)00062-4).
- Liu, B., Qin, L., Liu, A., Uchiyama, S., Ueno, T., Li, X., & Wang, P. (2010). Prevalence of the equol-producer phenotype and its relationship with dietary isoflavone and serum lipids in healthy Chinese adults. *Journal Of Epidemiology*, 20(5), 377–384. <https://doi.org/10.2188/jea.je20090185>

- Liu, S., D'Amico, D., Shankland, E., Bhayana, S., Garcia, J. M., Aebischer, P., Rinsch, C., Singh, A., & Marcinek, D. J. (2022a). Effect of urolithin a supplementation on muscle endurance and mitochondrial health in older adults: a randomized clinical trial. *JAMA Network Open*, 5(1), e2144279. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.44279>.
- Liu, Y. X., Qin, Y., Chen, T., Lu, M., Qian, X., Guo, X., & Bai, Y. (2021). A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. *Protein & Cell*, 12(5), 315–330. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00724-8>
- Liu, Y., Gu, Y., Han, Y., Zhang, Q., Jiang, Z., Zhang, X., Huang, B., Xu, X., Zheng, J., & Cao, X. (2016). Tumor exosomal RNAs promote lung pre-metastatic niche formation by activating alveolar epithelial TLR3 to recruit neutrophils. *Cancer Cell*, 30(2), 243–256. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.06.021>
- Liu, Z. M., Ho, S. C., Chen, Y. M., Liu, J., & Woo, J. (2014). Cardiovascular risks in relation to daidzein metabolizing phenotypes among Chinese postmenopausal women. *Plos One*, 9(2), e87861. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087861>
- Liu, Z., Wang, S., Dong, F., Lin, Y., Li, H., Shi, L., et al. (2020). Comprehensive analysis of resveratrol metabolites in rats using ultra high-performance liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(9), 7055-7065. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.07.011>
- Liu R. H. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *The Journal Of Nutrition*, 134(12), 3479S–3485S. <https://doi.org/10.1093/jn/134.12.3479S>
- Liu, J., Jiang, J., Qiu, J., Wang, L., Zhuo, J., Wang, B., Sun, D., Yu, S., Lou, H. (2022b). Urolithin A protects dopaminergic neurons in experimental models of Parkinson's disease by promoting mitochondrial biogenesis through the SIRT1/PGC-1 alpha signaling pathway. *Food & Function*, 13, 375–385. <https://doi.org/10.1039/d1fo02534a>
- Liu, Y., Yu, S., Wang, F., Yu, H., Li, X., Dong, W., Lin, R., & Liu, Q. (2018). Chronic administration of ellagic acid improved the cognition in middle-aged overweight men. *Applied Physiology, Nutrition, And Metabolism*, 43(3), 266–273. <https://doi.org/10.1139/apnm-2017-0583>
- Livshits, M. A., Khomyakova, E., Evtushenko, E. G., Lazarev, V. N., Kulemin, N. A., Semina, S. E., Generozov, E. V., & Govorun, V. M. (2015). Isolation of exosomes by differential centrifugation: Theoretical analysis of a commonly used protocol. *Scientific Reports*, 5, 17319. <https://doi.org/10.1038/srep17319>.
- Lobb, R. J., Becker, M., Wen, S. W., Wong, C. S. F., Wiegmanns, A. P., Leimgruber, A., & Möller, A. (2015). Optimized exosome isolation protocol for cell culture supernatant and human plasma. *Journal of Extracellular Vesicles*, 4, 27031. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27031>.
- Long, J., , Guo, Y., , Yang, J., , Henning, S. M., , Lee, R. P., , Rasmussen, A., , Zhang, L., , Lu, Q. Y., , Heber, D., , & Li, Z., (2019). Bioavailability and bioactivity of free ellagic acid compared to pomegranate juice. *Food & Function*, 10(10), 6582–6588. <https://doi.org/10.1039/c9fo01683j>
- Long, S. L., Gahan, C. G. M., & Joyce, S. A. (2017). Interactions between gut bacteria and bile in health and disease. *Molecular Aspects Of Medicine*, 56, 54–65. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.06.002>

- Lopetuso, L., Graziani, C., Guarino, A., Lamborghini, A., Masi, S., & Stanghellini, V. (2017). Gelatin tannate and tyndallized probiotics: a novel approach for treatment of diarrhea. *European Review For Medical And Pharmacological Sciences*, 21(4), 873–883.
- López Andrés, N., Tesse, A., Regnault, V., Louis, H., Cattán, V., Thornton, S. N., Labat, C., Kakou, A., Tual-Chalot, S., Faure, S., et al. (2012). Increased microparticle production and impaired microvascular endothelial function in aldosterone-salt-treated rats: protective effects of polyphenols. *Plos ONE*, 7, e39235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039235>
- López de Felipe, F., de Las Rivas, B., & Muñoz, R. (2014). Bioactive compounds produced by gut microbial tannase: implications for colorectal cancer development. *Frontiers In Microbiology*, 5, 684. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00684>
- López de Las Hazas, M. C., Del Pozo-Acebo, L., Hansen, M. S., Gil-Zamorano, J., Mantilla-Escalante, D. C., Gómez-Coronado, D., Marín, F., García-Ruiz, A., Rasmussen, J. T., & Dávalos, A. (2022). Dietary bovine milk miRNAs transported in extracellular vesicles are partially stable during GI digestion, are bioavailable and reach target tissues but need a minimum dose to impact on gene expression. *European Journal Of Nutrition*, 61(2), 1043–1056. <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02720-y>
- Lőrincz, Á. M., Timár, C. I., Marosvári, K. A., Veres, D. S., Otrókoci, L., Kittel, Á., & Ligeti, E. (2014). Effect of storage on physical and functional properties of extracellular vesicles derived from neutrophilic granulocytes. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 3, 25465. <https://doi.org/10.3402/jev.v3.25465>
- Lu, L. J., & Anderson, K. E. (1998). Sex and long-term soy diets affect the metabolism and excretion of soy isoflavones in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 1500S-1504S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/68.6.1500S>.
- Luan, H., Zhang, Q., Wang, L., Wang, C., Zhang, M., Xu, X., Zhou, H., Li, X., Xu, Q., He, F., Yuan, J., & Lv, Y. (2014). OM85-BV induced the productions of IL-1 β , IL-6, and TNF- α via TLR4- and TLR2-mediated ERK1/2/NF- κ B pathway in RAW264.7 cells. *Journal Of Interferon & Cytokine Research*, 34(7), 526–536. <https://doi.org/10.1089/jir.2013.0077>
- Luca, S. V., Macovei, I., Bujor, A., Miron, A., Skalicka-Woźniak, K., Aprotosoiaie, A. C., & Trifan, A. (2020). Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 60(4), 626–659. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1546669>
- Lynch, S. V., & Pedersen, O. (2016). The human intestinal microbiome in health and disease. *The New England Journal Of Medicine*, 375(24), 2369–2379. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1600266>.
- Ma, Z., Yang, J., Yang, Y., Wang, X., Chen, G., Shi, A., Lu, Y., Jia, S., Kang, X., & Lu, L. (2020). Rosmarinic acid exerts an anticancer effect on osteosarcoma cells by inhibiting DJ-1 via regulation of the PTEN-PI3K-Akt signaling pathway. *Phytomedicine*, 68, 153186. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153186>
- Macfarlane, G. T., & Macfarlane, S. (2011). Fermentation in the human large intestine: its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *Journal Of Clinical Gastroenterology*, 45, S120–S127. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31822fecfe>

- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., Billot, J. (1990). *Fruit Phenolics*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Maini Rekdal, V., Nol Bernadino, P., Luescher, M. U., Kiamehr, S., Le, C., Bisanz, J. E., Turnbaugh, P. J., Bess, E. N., & Balskus, E. P. (2020). A widely distributed metalloenzyme class enables gut microbial metabolism of host- and diet-derived catechols. *eLife*, 9, e50845. <https://doi.org/10.7554/eLife.50845>
- Manach, C., Morand, C., Texier, O., Favier, M. L., Agullo, G., Demigné, C., Régéat, F., Rémésy, C. (1995). Quercetin metabolites in plasma of rats fed diets containing rutin or quercetin. *Journal of Nutrition*, 125(7), 1911–1922. <https://doi.org/10.1093/jn/125.7.1911>.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>.
- Manca, S., Upadhyaya, B., Mutai, E., Desaulniers, A.T., Cederberg, R.A., White, B.R., Zemleni, J. (2018). Milk exosomes are bioavailable and distinct microRNA cargos have unique tissue distribution patterns. *Scientific Reports*, 8, 11321. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29780-1>.
- Mao, G., Zhang, Z., Hu, S., Zhang, Z., Chang, Z., Huang, Z., Liao, W., & Kang, Y. (2018). Exosomes derived from miR-92a-3p-overexpressing human mesenchymal stem cells enhance chondrogenesis and suppress cartilage degradation via targeting WNT5A. *Stem Cell Research & Therapy*, 9(1), 247. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1004-0>
- Marchant, B. (1981). Pharmacokinetic factors influencing variability in human drug response. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 39, 5-14. <https://doi.org/10.3109/03009748109095328>.
- Marchesi, J. R., Adams, D. H., Fava, F., Hermes, G. D., Hirschfield, G. M., Hold, G., Quraishi, M. N., Kinross, J., Smidt, H., Tuohy, K. M., Thomas, L. V., Zoetendal, E. G., & Hart, A. (2016). The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*, 65(2), 330–339. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309990>.
- Mardpour, S., Ghanian, M. H., Sadeghi-Abandansari, H., et al. (2019). Hydrogel-mediated sustained systemic delivery of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles improves hepatic regeneration in chronic liver failure. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11(41), 37421–37433.
- Marín, L., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2015). Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *BioMed Research International*, 2015, 905215. <https://doi.org/10.1155/2015/905215>.
- Martínez, I., Perdicaro, D. J., Brown, A. W., Hammons, S., Carden, T. J., Carr, T. P., Eskridge, K. M., & Walter, J. (2013). Diet-induced alterations of host cholesterol metabolism are likely to affect the gut microbiota composition in hamsters. *Applied And Environmental Microbiology*, 79(2), 516–524. <https://doi.org/10.1128/AEM.03046-12>
- Marto, N., Morello, J., Monteiro, E. C., & Pereira, S. A. (2017). Implications of sulfotransferase activity in interindividual variability in drug response: clinical perspective on current knowledge. *Drug Metabolism Reviews*, 49(3), 357–371. <https://doi.org/10.1080/03602532.2017.1335749>

- Maruo, T., Sakamoto, M., Ito, C., Toda, T. & Benno, Y. (2008). *Adlercreutzia equolifaciens* gen. nov., sp. nov., an equol-producing bacterium isolated from human faeces, and emended description of the genus *Eggerthella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58, 1221-1227. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.65404-0>.
- Marx, W., Kelly, J. T., Marshall, S., Cutajar, J., Annois, B., Pipingas, A., Tierney, A., & Itsiopoulos, C. (2018). Effect of resveratrol supplementation on cognitive performance and mood in adults: a systematic literature review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition Reviews*, 76(6), 432–443. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy010>.
- Mathieu, M., Martin-Jaular, L., Lavieu, G., & Théry, C. (2019). Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nature Cell Biology*, 21(1), 9–17. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0250-9>
- Mathipa, M. G., & Thantsha, M. S. (2017). Probiotic engineering: towards development of robust probiotic strains with enhanced functional properties and for targeted control of enteric pathogens. *Gut Pathogens*, 9, 28. <https://doi.org/10.1186/s13099-017-0178-9>
- Matthews, L. G., Smyser, C. D., Cherkerzian, S., Alexopoulos, D., Kenley, J., Tuuli, M. G., Nelson, D. M., & Inder, T. E. (2019). Maternal pomegranate juice intake and brain structure and function in infants with intrauterine growth restriction: A randomized controlled pilot study. *PloS One*, 14(8), e0219596. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219596>
- Matthies, A., Blaut, M., & Braune, A. (2009). Isolation of a human intestinal bacterium capable of daidzein and genistein conversion. *Applied And Environmental Microbiology*, 75(6), 1740–1744. <https://doi.org/10.1128/AEM.01795-08>
- Matthies, A., Loh, G., Blaut, M., & Braune, A. (2012). Daidzein and genistein are converted to equol and 5-hydroxy-equol by human intestinal *Slackia isoflavoniconvertens* in gnotobiotic rats. *The Journal Of Nutrition*, 142(1), 40–46. <https://doi.org/10.3945/jn.111.148247>
- Maurice, C. F., Haiser, H. J., & Turnbaugh, P. J. (2013). Xenobiotics shape the physiology and gene expression of the active human gut microbiome. *Cell*, 152(1-2), 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.10.052>.
- Mayo, B., Vázquez, L., & Flórez, A. B. (2019). Equol: a bacterial metabolite from the daidzein isoflavone and its presumed beneficial health effects. *Nutrients*, 11(9), 2231. <https://doi.org/10.3390/nu11092231>
- McAndrews, K. M., Kalluri, R. (2019). Mechanisms associated with biogenesis of exosomes in cancer. *Molecular Cancer*, 18, 52. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-0963-9>.
- McNamara, R. P., Caro-Vegas, C. P., Costantini, L. M., Landis, J. T., Griffith, J. D., Damania, B., & Dittmer, D. P. (2018). Large-scale, cross-flow based isolation of highly pure and endocytosis-competent extracellular vesicles. *Journal of Extracellular Vesicles*, 7, 1541396. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1541396>.
- Meech, R., Hu, D. G., McKinnon, R. A., Mubarakah, S. N., Haines, A. Z., Nair, P. C., Rowland, A., & Mackenzie, P. I. (2019). The UDP-Glycosyltransferase (UGT) superfamily: new members, new functions, and novel paradigms. *Physiological Reviews*, 99(2), 1153–1222. <https://doi.org/10.1152/physrev.00058.2017>

- Mehryab, F., Rabbani, S., Shahhosseini, S., Shekari, F., Fatahi, Y., Baharvand, H., Haeri, A. (2020). Exosomes as a next-generation drug delivery system: An update on drug loading approaches, characterization, and clinical application challenges. *Acta Biomaterialia*, 113, 42–62. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.06.036>.
- Melo, S. A., Sugimoto, H., O'Connell, J. T., Kato, N., Villanueva, A., Vidal, A., Qiu, L., Vitkin, E., Perelman, L. T., Melo, C. A., Lucci, A., Ivan, C., Calin, G. A., & Kalluri, R. (2014). Cancer exosomes perform cell-independent microRNA biogenesis and promote tumorigenesis. *Cancer Cell*, 26(5), 707–721. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2014.09.005>
- Mena, P., Bresciani, L., Brindani, N., Ludwig, I. A., Pereira-Caro, G., Angelino, D., Llorach, R., Calani, L., Brighenti, F., Clifford, M. N., Gill, C. I. R., Crozier, A., Curti, C., & Del Rio, D. (2019). Phenyl-γ-valerolactones and phenylvaleric acids, the main colonic metabolites of flavan-3-ols: synthesis, analysis, bioavailability, and bioactivity. *Natural Product Reports*, 36(5), 714–752. <https://doi.org/10.1039/c8np00062j>
- Mendt, M., Kamerkar, S., Sugimoto, H., McAndrews, K. M., Wu, C. C., Gagea, M., Yang, S., Blanko, E. V. R., Peng, Q., Ma, X., Marszalek, J. R., Maitra, A., Yee, C., Rezvani, K., Shpall, E., LeBleu, V. S., & Kalluri, R. (2018). Generation and testing of clinical-grade exosomes for pancreatic cancer. *JCI insight*, 3(8), e99263. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.99263>
- Menezes, R., Rodriguez-Mateos, A., Kaltsatou, A., González-Sarriás, A., Greyling, A., Giannaki, C., Andres-Lacueva, C., Milenkovic, D., Gibney, E. R., Dumont, J., Schär, M., Garcia-Aloy, M., Palma-Duran, S. A., Ruskovska, T., Maksimova, V., Combet, E., & Pinto, P. (2017). Impact of flavonols on cardiometabolic biomarkers: a meta-analysis of randomized controlled human trials to explore the role of inter-individual variability. *Nutrients*, 9(2), 117. <https://doi.org/10.3390/nu9020117>
- Meroño T, Peron G, Gargari G, González-Domínguez R, Miñarro A, Vegas-Lozano E, Hidalgo-Liberona N, Del Bo' C, Bernardi S, Kroon PA, Carrieri B, Cherubini A, Riso P, Guglielmetti S, Andrés-Lacueva C. (2022). The relevance of urolithins-based metabotyping for assessing the effects of a polyphenol-rich dietary intervention on intestinal permeability: A post-hoc analysis of the MaPLE trial. *Food Research International*, 159, 111632. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111632>.
- Messina, M. (2000). Soyfoods and soybean phyto-estrogens (isoflavones) as possible alternatives to hormone replacement therapy (HRT). *European Journal of Cancer*, 36, S71–S77. [https://doi.org/10.1016/s0959-8049\(00\)00233-1](https://doi.org/10.1016/s0959-8049(00)00233-1).
- Meyer, T. W., & Hostetter, T. H. (2012). Uremic solutes from colon microbes. *Kidney International*, 81(10), 949–954. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.504>.
- Meyer, U. A. (1996). Overview of enzymes of drug metabolism. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 24(5), 449–459. <https://doi.org/10.1007/BF02353473>.
- Miksits, M., Maier-Salamon, A., Aust, S., Thalhammer, T., Reznicek, G., Kunert, O., Haslinger, E., Szekeres, T., & Jaeger, W. (2005). Sulfation of resveratrol in human liver: evidence of a major role for the sulfotransferases SULT1A1 and SULT1E1. *Xenobiotica*, 35(12), 1101–1119. <https://doi.org/10.1080/00498250500354253>.

- Milenkovic, D., Morand, C., Cassidy, A., Konic-Ristic, A., Tomás-Barberán, F., Ordovas, J. M., Kroon, P., De Caterina, R., & Rodriguez-Mateos, A. (2017). Interindividual variability in biomarkers of cardiometabolic health after consumption of major plant-food bioactive compounds and the determinants involved. *Advances In Nutrition*, 8(4), 558–570. <https://doi.org/10.3945/an.116.013623>.
- Miller, L. M., Lampe, J. W., Newton, K. M., Gundersen, G., Fuller, S., Reed, S. D., & Frankenfeld, C. L. (2017). Being overweight or obese is associated with harboring a gut microbial community not capable of metabolizing the soy isoflavone daidzein to O-desmethylangolensin in peri- and post-menopausal women. *Maturitas*, 99, 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2017.02.006>
- Mills, S., Stanton, C., Lane, J. A., Smith, G. J., & Ross, R. P. (2019). Precision nutrition and the microbiome, part I: current state of the science. *Nutrients*, 11(4), 923. <https://doi.org/10.3390/nu11040923>
- Minamida, K., Ota, K., Nishimukai, M., Tanaka, M., Abe, A., Sone, T., Tomita, F., Hara, H. & Asano, K. (2008). *Asaccharobacter celatus* gen. nov., sp. nov., isolated from rat caecum. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58, 1238-1240. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.64894-0>.
- Miquel, S., Martín, R., Rossi, O., Bermúdez-Humarán, L. G., Chatel, J. M., Sokol, H., Thomas, M., Wells, J. M., & Langella, P. (2013). Faecalibacterium prausnitzii and human intestinal health. *Current Opinion In Microbiology*, 16(3), 255–261. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.06.003>.
- Mithul Aravind, S., Wichienchot, S., Tsao, R., Ramakrishnan, S., & Chakkaravarthi, S. (2021). Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits. *Food Research International*, 142, 110189. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110189>
- Moghadam, B. E., Keivaninahr, F., Fouladi, M., Rezaei Mokarram, R., & Nazemi, A. (2019). Inulin addition to yoghurt: Prebiotic activity, health effects and sensory properties. *International Journal of Dairy Technology*, 72, 183–198. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12579>
- Moorthy, M., Chaiyakunapruk, N., Jacob, S. A., & Palanisamy, U. D. (2020). Prebiotic potential of polyphenols, its effect on gut microbiota and anthropometric/clinical markers: A systematic review of randomised controlled trials. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 634–649. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.036>.
- Morais, C. A., de Rosso, V. V., Estadella, D., & Pisani, L. P. (2016). Anthocyanins as inflammatory modulators and the role of the gut microbiota. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 33, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.11.008>.
- Morand, C., & Tomás-Barberán, F. A. (2019). Interindividual variability in absorption, distribution, metabolism, and excretion of food phytochemicals should be reported. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 67(14), 3843–3844. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b01175>
- Moreno-Indias, I., Sánchez-Alcoholado, L., Pérez-Martínez, P., Andrés-Lacueva, C., Cardona, F., Tinahones, F., & Queipo-Ortuño, M. I. (2016). Red wine polyphenols modulate fecal microbiota and reduce markers of the metabolic syndrome in obese patients. *Food & Function*, 7(4), 1775–1787. <https://doi.org/10.1039/c5fo00886g>.

- Morita, N., Umemoto, E., Fujita, S., Hayashi, A., Kikuta, J., Kimura, I., Haneda, T., Imai, T., Inoue, A., Mimuro, H., Maeda, Y., Kayama, H., Okumura, R., Aoki, J., Okada, N., Kida, T., Ishii, M., Nabeshima, R., & Takeda, K. (2019). GPR31-dependent dendrite protrusion of intestinal CX3CR1+ cells by bacterial metabolites. *Nature*, 566(7742), 110–114. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0884-1>
- Mosele, J. I., Macià, A., & Motilva, M. J. (2015). Metabolic and microbial modulation of the large intestine ecosystem by non-absorbed diet phenolic compounds: a review. *Molecules*, 20(9), 17429–17468. <https://doi.org/10.3390/molecules200917429>
- Most, J., Penders, J., Lucchesi, M., Goossens, G. H., & Blaak, E. E. (2017). Gut microbiota composition in relation to the metabolic response to 12-week combined polyphenol supplementation in overweight men and women. *European Journal Of Clinical Nutrition*, 71(9), 1040–1045. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2017.89>
- Moussa, C., Hebron, M., Huang, X., Ahn, J., Rissman, R. A., Aisen, P. S., & Turner, R. S. (2017). Resveratrol regulates neuro-inflammation and induces adaptive immunity in Alzheimer's disease. *Journal Of Neuroinflammation*, 14(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0779-0>
- Movileanu, L., Neagoe, I., Flonta, M. L. (2000). Interaction of the antioxidant flavonoid quercetin with planar lipid bilayers. *International Journal of Pharmaceutics*, 205(1-2), 135–146. [https://doi.org/10.1016/s0378-5173\(00\)00503-2](https://doi.org/10.1016/s0378-5173(00)00503-2).
- Mozos, I., Flangea, C., Vlad, D. C., Gug, C., Mozos, C., Stoian, D., Luca, C. T., Horbańczuk, J. O., Horbańczuk, O. K., & Atanasov, A. G. (2021). Effects of anthocyanins on vascular health. *Biomolecules*, 11(6), 811. <https://doi.org/10.3390/biom11060811>
- Mullier, F., Bailly, N., Chatelain, C., Chatelain, B., & Dogné, J. M. (2013). Pre-analytical issues in the measurement of circulating microparticles: current recommendations and pending questions. *Journal Of Thrombosis And Haemostasis*, 11(4), 693–696. <https://doi.org/10.1111/jth.12171>
- Muraoka, S., DeLeo, A. M., Sethi, M. K., Yukawa-Takamatsu, K., Yang, Z., Ko, J., Hogan, J. D., Ruan, Z., You, Y., Wang, Y., Medalla, M., Ikezu, S., Chen, M., Xia, W., Gorantla, S., Gendelman, H. E., Issadore, D., Zaia, J., & Ikezu, T. (2020). Proteomic and biological profiling of extracellular vesicles from Alzheimer's disease human brain tissues. *Alzheimer's & Dementia*, 16(6), 896–907. <https://doi.org/10.1002/alz.12089>
- Murata, M., Kondo, J., Iwabuchi, N., Takahashi, S., Yamauchi, K., Abe, F., & Miura, K. (2018). Effects of paraprobiotic *Lactobacillus paracasei* MCC1849 supplementation on symptoms of the common cold and mood states in healthy adults. *Beneficial Microbes*, 9(6), 855–864. <https://doi.org/10.3920/BM2017.0197>
- Murota, K., Nakamura, Y., & Uehara, M. (2018). Flavonoid metabolism: the interaction of metabolites and gut microbiota. *Bioscience, Biotechnology, And Biochemistry*, 82(4), 600–610. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1444467>
- Nagy-Szakal, D., Williams, B. L., Mishra, N., Che, X., Lee, B., Bateman, L., Klimas, N. G., Komaroff, A. L., Levine, S., Montoya, J. G., Peterson, D. L., Ramanan, D., Jain, K., Eddy, M. L., Hornig, M., & Lipkin, W. I. (2017). Fecal metagenomic profiles in subgroups of patients with myalgic

- p>encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome.
- Microbiome*
- , 5(1), 44.
- <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0261-y>
- Najmanová, I., Vopršalová, M., Saso, L., & Mladěnka, P. (2020). The pharmacokinetics of flavanones. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 60(18), 3155–3171. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1679085>
- Nakajima, M., Itoh, M., Yamanaka, H., Fukami, T., Tokudome, S., Yamamoto, Y., Yamamoto, H., Yokoi, T. (2006). Isoflavones inhibit nicotine C-oxidation catalyzed by human CYP2A6. *Journal of Clinical Pharmacology*, 46(3), 337–344. <https://doi.org/10.1177/0091270005285199>.
- Neuman, H., Debelius, J. W., Knight, R., & Koren, O. (2015). Microbial endocrinology: the interplay between the microbiota and the endocrine system. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(4), 509–521. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu010>.
- Nichols A. W. (2007). Probiotics and athletic performance: a systematic review. *Current Sports Medicine Reports*, 6(4), 269–273. <https://doi.org/10.1097/01.csmr.0000306483.85035.b7>
- Nielsen, S. E., Breinholt, V., Justesen, U., Cornett, C., Dragsted, L. O. (1998). *In vitro* biotransformation of flavonoids by rat liver microsomes. *Xenobiotica*, 28(4), 389–401. <https://doi.org/10.1080/004982598239498>.
- NIH Office of Dietary Supplements (2004). Bioactive food components initiatives. Consultado en 2 de Julio de 2023. https://ods.od.nih.gov/Research/Bioactive_Food_Components_Initiatives.aspx.
- Nishida, K., Sawada, D., Kawai, T., Kuwano, Y., Fujiwara, S., & Rokutan, K. (2017). Para-psychobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 ameliorates stress-related symptoms and sleep quality. *Journal Of Applied Microbiology*, 123(6), 1561–1570. <https://doi.org/10.1111/jam.13594>
- Nolte-'t Hoen, E., Cremer, T., Gallo, R. C., & Margolis, L. B. (2016). Extracellular vesicles and viruses: Are they close relatives?. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(33), 9155–9161. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605146113>
- Núñez-Sánchez, M. A., García-Villalba, R., Monedero-Saiz, T., García-Talavera, N. V., Gómez-Sánchez, M. B., Sánchez-Álvarez, C., García-Albert, A. M., Rodríguez-Gil, F. J., Ruiz-Marín, M., Pastor-Quirante, F. A., Martínez-Díaz, F., Yáñez-Gascón, M. J., González-Sarrías, A., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2014). Targeted metabolic profiling of pomegranate polyphenols and urolithins in plasma, urine and colon tissues from colorectal cancer patients. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(6), 1199–1211. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300931>
- Núñez-Sánchez, M. A., González-Sarrías, A., García-Villalba, R., Monedero-Saiz, T., García-Talavera, N. V., Gómez-Sánchez, M. B., Sánchez-Álvarez, C., García-Albert, A. M., Rodríguez-Gil, F. J., Ruiz-Marín, M., Pastor-Quirante, F. A., Martínez-Díaz, F., Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C., & García-Conesa, M. T. (2017). Gene expression changes in colon tissues from colorectal cancer patients following the intake of an ellagitannin-containing pomegranate extract: a randomized clinical trial. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*, 42, 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.01.014>
- Núñez-Sánchez, M. A., González-Sarrías, A., Romo-Vaquero, M., García-Villalba, R., Selma, M. V., Tomás-Barberán, F. A., García-Conesa, M. T., Espín, J. C. (2015). Dietary phenolics against

- colorectal cancer--From promising preclinical results to poor translation into clinical trials: Pitfalls and future needs. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(7), 1274–1291. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400866>.
- Nurmi, T., Mursu, J., Heinonen, M., Nurmi, A., Hiltunen, R., Voutilainen, S. (2009). Metabolism of berry anthocyanins to phenolic acids in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2274–2281. <https://doi.org/10.1021/jf8035116>.
- O'Grady, T., Njock, M. S., Lion, M., Bruyr, J., Mariavelle, E., Galvan, B., Boeckx, A., Struman, I., & Dequiedt, F. (2022). Sorting and packaging of RNA into extracellular vesicles shape intracellular transcript levels. *BMC Biology*, 20(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s12915-022-01277-4>
- Oh, J., Byrd, A. L., Deming, C., Conlan, S., NISC Comparative Sequencing Program, Kong, H. H., & Segre, J. A. (2014). Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature*, 514(7520), 59–64. <https://doi.org/10.1038/nature13786>.
- Olthof, M. R., Hollman, P. C., Vree, T. B., Katan, M. B. (2000). Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4'-glucoside do not differ in humans. *Journal of Nutrition*, 130(5), 1200–1203. <https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1200>.
- Omar, M. H., Mullen, W., Stalmach, A., Auger, C., Rouanet, J. M., Teissedre, P. L., Caldwell, S. T., Hartley, R. C., & Crozier, A. (2012). Absorption, disposition, metabolism, and excretion of [3-(14)C] caffeic acid in rats. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 60(20), 5205–5214. <https://doi.org/10.1021/jf3001185>
- Ordóñez, J. L., Pereira-Caro, G., Ludwig, I., Muñoz-Redondo, J. M., Ruiz-Moreno, M. J., Crozier, A., & Moreno-Rojas, J. M. (2018). A critical evaluation of the use of gas chromatography- and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry techniques for the analysis of microbial metabolites in human urine after consumption of orange juice. *Journal Of Chromatography*, 1575, 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.09.016>
- O'Toole, P. W., & Jeffery, I. B. (2018). Microbiome-health interactions in older people. *Cellular And Molecular Life Sciences*, 75(1), 119–128. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2673-z>
- Ottaviani, J. I., Momma, T. Y., Heiss, C., Kwik-Urbe, C., Schroeter, H., & Keen, C. L. (2011). The stereochemical configuration of flavanols influences the level and metabolism of flavanols in humans and their biological activity *in vivo*. *Free Radical Biology & Medicine*, 50(2), 237–244. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.005>
- Oyama, A., Ueno, T., Uchiyama, S., Aihara, T., Miyake, A., Kondo, S., & Matsunaga, K. (2012). The effects of natural S-equol supplementation on skin aging in postmenopausal women: a pilot randomized placebo-controlled trial. *Menopause*, 19(2), 202–210. <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e318227427b>
- Ozdal, T., Sela, D. A., Xiao, J., Boyacioglu, D., Chen, F., & Capanoglu, E. (2016). The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. *Nutrients*, 8(2), 78. <https://doi.org/10.3390/nu8020078>.
- Pallauf, K., Chin, D., Günther, I., Birringer, M., Lüersen, K., Schultheiß, G., Vieten, S., Krauß, J., Bracher, F., Danylec, N., Soukup, S. T., Kulling, S. E., & Rimbach, G. (2019). Resveratrol, lunularin and dihydroresveratrol do not act as caloric restriction mimetics when administered

- intraperitoneally in mice. *Scientific Reports*, 9(1), 4445. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41050-2>
- Palmnäs, M., Brunius, C., Shi, L., Rostgaard-Hansen, A., Torres, N. E., González-Domínguez, R., Zamora-Ros, R., Ye, Y. L., Halkjær, J., Tjønneland, A., Riccardi, G., Giacco, R., Costabile, G., Vetrani, C., Nielsen, J., Andres-Lacueva, C., & Landberg, R. (2020). Perspective: metabotyping-a potential personalized nutrition strategy for precision prevention of cardiometabolic disease. *Advances In Nutrition*, 11(3), 524–532. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz121>
- Pandey, K. B., Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>.
- Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal Of Food Science And Technology*, 52(12), 7577–7587. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>
- Panigrahi, P., Parida, S., Nanda, N. C., Satpathy, R., Pradhan, L., Chandel, D. S., Baccaglini, L., Mohapatra, A., Mohapatra, S. S., Misra, P. R., Chaudhry, R., Chen, H. H., Johnson, J. A., Morris, J. G., Paneth, N., & Gewolb, I. H. (2017). A randomized synbiotic trial to prevent sepsis among infants in rural India. *Nature*, 548(7668), 407–412. <https://doi.org/10.1038/nature23480>
- Parker, R. B. (1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition And Health*, 29, 4–8.
- Pascual-Teresa, S., Sanchez-Ballesta, M. T. (2008). Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemistry Reviews*, 7, 281–299. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9074-0>.
- Passamonti, S., Vrhovsek, U., Vanzo, A., Mattivi, F. (2005). Fast access of some grape pigments to the brain. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 53(18), 7029–7034. <https://doi.org/10.1021/jf050565k>.
- Pathan, M., Fonseka, P., Chitti, S. V., Kang, T., Sanwlani, R., Van Deun, J., Hendrix, A., & Mathivanan, S. (2019). Vesiclepedia 2019: a compendium of RNA, proteins, lipids and metabolites in extracellular vesicles. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D516–D519. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1029>
- Paulo, L., Ferreira, S., Gallardo, E., Queiroz, J.A., & Domingues, F. (2010). Antimicrobial activity and effects of resveratrol on human pathogenic bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 1533–1538. <https://doi.org/10.1007/S11274-010-0325-7>
- Peirotén, Á., Gaya, P., Álvarez, I., Bravo, D., & Landete, J. M. (2019). Influence of different lignan compounds on enterolignan production by *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains. *International Journal Of Food Microbiology*, 289, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.028>
- Peng, M., & Biswas, D. (2017). Short chain and polyunsaturated fatty acids in host gut health and foodborne bacterial pathogen inhibition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 3987–4002. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1203286>

- Peng, M., Tabashsum, Z., Anderson, M., Truong, A., Houser, A. K., Padilla, J., Akmel, A., Bhatti, J., Rahaman, S. O., & Biswas, D. (2020a). Effectiveness of probiotics, prebiotics, and prebiotic-like components in common functional foods. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 19(4), 1908–1933. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12565>
- Peng, M., Tabashsum, Z., Patel, P., Bernhardt, C., & Biswas, D. (2018). Linoleic acids overproducing *Lactobacillus casei* limits growth, survival, and virulence of *Salmonella typhimurium* and enterohaemorrhagic *Escherichia coli*. *Frontiers In Microbiology*, 9, 2663. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02663>
- Peng, M., Tabashsum, Z., Patel, P., Bernhardt, C., Biswas, C., Meng, J., & Biswas, D. (2020b). Prevention of enteric bacterial infections and modulation of gut microbiota with conjugated linoleic acids producing *Lactobacillus* in mice. *Gut Microbes*, 11(3), 433–452. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1638724>
- Perets, N., Hertz, S., London, M., & Offen, D. (2018). Intranasal administration of exosomes derived from mesenchymal stem cells ameliorates autistic-like behaviors of BTBR mice. *Molecular Autism*, 9, 57. <https://doi.org/10.1186/s13229-018-0240-6>
- Pérez-Jiménez, J., Hubert, J., Hooper, L., Cassidy, A., Manach, C., Williamson, G., & Scalbert, A. (2010). Urinary metabolites as biomarkers of polyphenol intake in humans: a systematic review. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 92(4), 801–809. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.29924>
- Pérez-Martínez, P., García-Ríos, A., Delgado-Lista, J., Pérez-Jiménez, F., & López-Miranda, J. (2012). Metabolic syndrome: evidences for a personalized nutrition. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(1), 67–76. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100531>
- Perez-Muñoz, M. E., Arrieta, M. C., Ramer-Tait, A. E., & Walter, J. (2017). A critical assessment of the "sterile womb" and "in utero colonization" hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*, 5(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0268-4>
- Periti, P., & Mazzei, T. (1998). Antibiotic-induced release of bacterial cell wall components in the pathogenesis of sepsis and septic shock: a review. *Journal Of Chemotherapy*, 10(6), 427–448. <https://doi.org/10.1179/joc.1998.10.6.427>
- Perler, B. K., Friedman, E. S., & Wu, G. D. (2023). The role of the gut microbiota in the relationship between diet and human health. *Annual Review Of Physiology*, 85, 449–468. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-031522-092054>
- Petrova, M. I., Imholz, N. C., Verhoeven, T. L., Balzarini, J., Van Damme, E. J., Schols, D., Vanderleyden, J., & Lebeer, S. (2016). Lectin-like molecules of *Lactobacillus rhamnosus* GG inhibit pathogenic *Escherichia Coli* and *salmonella* biofilm formation. *PloS One*, 11(8), e0161337. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161337>
- Pezzuto J. M. (2019). Resveratrol: twenty years of growth, development and controversy. *Biomolecules & Therapeutics*, 27(1), 1–14. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2018.176>
- Piazzon, A., Vrhovsek, U., Masuero, D., Mattivi, F., Mandoj, F., & Nardini, M. (2012). Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: synthesis and antioxidant properties of the

- sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 60(50), 12312–12323. <https://doi.org/10.1021/jf304076z>
- Piqué, N., Berlanga, M., & Miñana-Galbis, D. (2019). Health benefits of heat-killed (tyndallized) probiotics: an overview. *International Journal Of Molecular Sciences*, 20(10), 2534. <https://doi.org/10.3390/ijms20102534>
- Piskula M. K. (2000). Soy isoflavone conjugation differs in fed and food-deprived rats. *The Journal Of Nutrition*, 130(7), 1766–1771. <https://doi.org/10.1093/jn/130.7.1766>
- Piskula, M. K., Yamakoshi, J., Iwai, Y. (1999). Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from the rat stomach. *FEBS Letters*, 447(2-3), 287–291. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(99\)00307-5](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(99)00307-5).
- Plamada, D., & Vodnar, D. C. (2021). Polyphenols-gut microbiota interrelationship: a transition to a new generation of prebiotics. *Nutrients*, 14(1), 137. <https://doi.org/10.3390/nu14010137>
- Plovier, H., Everard, A., Druart, C., Depommier, C., Van Hul, M., Geurts, L., Chilloux, J., Ottman, N., Duparc, T., Lichtenstein, L., Myridakis, A., Delzenne, N. M., Klievink, J., Bhattacharjee, A., van der Ark, K. C., Aalvink, S., Martinez, L. O., Dumas, M. E., Maiter, D., Loumaye, A., ... Cani, P. D. (2017). A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nature Medicine*, 23(1), 107–113. <https://doi.org/10.1038/nm.4236>
- Polimeno, L., Barone, M., Mosca, A., Viggiani, M. T., Joukar, F., Mansour-Ghanaei, F., Mavaddati, S., Daniele, A., Debellis, L., Bilancia, M., Santacroce, L. & Di Leo, A. (2020). Soy metabolism by gut microbiota from patients with precancerous intestinal lesions. *Microorganisms*, 8, 469. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040469>.
- Pope G. S. (1964). Isolation of two benzocoumarins from 'clover stone' a type of renal calculus found in sheep. *The Biochemical Journal*, 93(3), 474–477. <https://doi.org/10.1042/bj0930474>
- Porter, L. W. (1989). Tannins. In: Harborne JB, ed. *Methods In Plant Biochemistry, I: Plant Phenolics*. London: Academic Press, 389-419.
- Possemiers, S., Bolca, S., Eeckhaut, E., Depypere, H., & Verstraete, W. (2007). Metabolism of isoflavones, lignans and prenylflavonoids by intestinal bacteria: producer phenotyping and relation with intestinal community. *FEMS Microbiology Ecology*, 61(2), 372–383. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00330.x>
- Potì, F., Santi, D., Spaggiari, G., Zimetti, F., Zanotti, I. (2019). Polyphenol health effects on cardiovascular and neurodegenerative disorders: a review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 351. <https://doi.org/10.3390/ijms20020351>.
- Prasad, C. P., Rath, G., Mathur, S., Bhatnagar, D., & Ralhan, R. (2009). Potent growth suppressive activity of curcumin in human breast cancer cells: Modulation of Wnt/beta-catenin signaling. *Chemico-biological Interactions*, 181(2), 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2009.06.012>
- Prasanna, P.H. P., & Charalampopoulos, D. (2019). Encapsulation in an alginate–goats’ milk–inulin matrix improves survival of probiotic *Bifidobacterium* in simulated gastrointestinal conditions

- p>and goats'milk yoghurt.
- International Journal of Dairy Technology*
- , 72, 132–141
-
- <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12568>
- Prior, R. L., Wu, X. (2006). Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*, 40(10), 1014–1028.
<https://doi.org/10.1080/10715760600758522>.
- Puupponen-Pimiä, R., Seppänen-Laakso, T., Kankainen, M., Maukonen, J., Törrönen, R., Kolehmainen, M., Leppänen, T., Moilanen, E., Nohynek, L., Aura, A. M., Poutanen, K., Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C., & Oksman-Caldentey, K. M. (2013). Effects of ellagitannin-rich berries on blood lipids, gut microbiota, and urolithin production in human subjects with symptoms of metabolic syndrome. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(12), 2258–2263.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.201300280>
- Qu, M., Lin, Q., Huang, L., Fu, Y., Wang, L., & He, S. (2018). Dopamine-loaded blood exosomes targeted to brain for better treatment of Parkinson's disease. *Journal of Controlled Release*, 287, 156–166. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.08.035>
- Quartieri, A., García-Villalba, R., Amaretti, A., Raimondi, S., Leonardi, A., Rossi, M., & Tomás-Barberán, F. A. (2016). Detection of novel metabolites of flaxseed lignans *in vitro* and *in vivo*. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(7), 1590–1601.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.201500773>.
- Qiu, J., Chen, Y., Zhuo, J., Zhang, L., Liu, J., Wang, B., Sun, D., Yu, S., & Lou, H. (2022). Urolithin A promotes mitophagy and suppresses NLRP3 inflammasome activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglial cells and MPTP-induced Parkinson's disease model. *Neuropharmacology*, 207, 108963. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.108963>
- Ragan, M. A., Glombitza, K. (1986). Phlorotannins: brown algal polyphenols. *Progress In Phycological Research*, 4, 177–24.
- Rajha, H. N., Paule, A., Aragonès, G., Barbosa, M., Caddeo, C., Debs, E., Dinkova, R., Eckert, G. P., Fontana, A., Gebrayel, P., Maroun, R. G., Napolitano, A., Panzella, L., Pasinetti, G. M., Stevens, J. F., Schieber, A., & Edeas, M. (2022). Recent advances in research on polyphenols: effects on microbiota, metabolism, and health. *Molecular Nutrition & Food Research*, 66(1), e2100670.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.202100670>
- Raman, G., Avendano, E. E., Chen, S., Wang, J., Matson, J., Gayer, B., Novotny, J. A., & Cassidy, A. (2019). Dietary intakes of flavan-3-ols and cardiometabolic health: systematic review and meta-analysis of randomized trials and prospective cohort studies. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 110(5), 1067–1078. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz178>
- Ranadheera, C. S., Naumovski, N., & Ajlouni, S. (2018). Non-bovinemilk products as emerging probiotic carriers: Recent developments and innovations. *Current Opinion In Food Science*, 22, 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.02.010>
- Rechner, A. R., Smith, M. A., Kuhnle, G., Gibson, G. R., Debnam, E. S., Srai, S. K., Moore, K. P., Rice-Evans, C. A. (2004). Colonic metabolism of dietary polyphenols: influence of structure on microbial fermentation products. *Free Radical Biology and Medicine*, 36(2), 212–225.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2003.09.022>.

- Reinhardt, C., Bergentall, M., Greiner, T. U., Schaffner, F., Ostergren-Lundén, G., Petersen, L. C., Ruf, W., & Bäckhed, F. (2012). Tissue factor and PAR1 promote microbiota-induced intestinal vascular remodelling. *Nature*, 483(7391), 627–631. <https://doi.org/10.1038/nature10893>.
- Reis, A., Perez-Gregorio, R., Mateus, N., & de Freitas, V. (2021). Interactions of dietary polyphenols with epithelial lipids: advances from membrane and cell models in the study of polyphenol absorption, transport and delivery to the epithelium. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 61(18), 3007–3030. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1791794>
- Remely, M., Tesar, I., Hippe, B., Gnauer, S., Rust, P., & Haslberger, A. G. (2015). Gut microbiota composition correlates with changes in body fat content due to weight loss. *Beneficial Microbes*, 6(4), 431–439. <https://doi.org/10.3920/BM2014.0104>.
- Reverri, E. J., Slupsky, C. M., Mishchuk, D. O. & Steinberg, F. M. (2017). Metabolomics reveals differences between three daidzein metabolizing phenotypes in adults with cardiometabolic risk factors. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61, 1600132. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600132>.
- Reyes, A., Haynes, M., Hanson, N., Angly, F. E., Heath, A. C., Rohwer, F., & Gordon, J. I. (2010). Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature*, 466(7304), 334–338. <https://doi.org/10.1038/nature09199>.
- Richelle, M., Pridmore-Merten, S., Bodenstab, S., Enslen, M., Offord, E. A. (2002). Hydrolysis of isoflavone glycosides to aglycones by beta-glycosidase does not alter plasma and urine isoflavone pharmacokinetics in postmenopausal women. *Journal of Nutrition*, 132(9), 2587–2592. <https://doi.org/10.1093/jn/132.9.2587>.
- Rios, L. Y., Gonthier, M. P., Rémésy, C., Mila, I., Lapierre, C., Lazarus, S. A., Williamson, G., Scalbert, A. (2003). Chocolate intake increases urinary excretion of polyphenol-derived phenolic acids in healthy human subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(4), 912–918. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.4.912>.
- Robards, K., Li, X., Antolovich, M., Boyd, S. (1997). Characterisation of citrus by chromatographic analysis of flavonoids. *Journal of Science and Food Agriculture*, 75, 87–101. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199709\)75:1%3C87::AID-JSFA846%3E3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199709)75:1%3C87::AID-JSFA846%3E3.0.CO;2-B).
- Roberfroid, M., Gibson, G. R., Hoyles, L., McCartney, A. L., Rastall, R., Rowland, I., Wolvers, D., Watzl, B., Szajewska, H., Stahl, B., Guarner, F., Respondek, F., Whelan, K., Coxam, V., Davicco, M.-J., L'eoing, L., Wittrant, Y., Delzenne, N. M., Cani, P. D., Neyrinck, A. M., & Meheust, A. (2010). Prebiotic effects: Metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*, 104(S2), S1–S63. <https://doi.org/10.1017/S0007114510003363>.
- Romo-Vaquero, M., Cortés-Martín, A., Loria-Kohen, V., Ramírez-de-Molina, A., García-Mantrana, I., Collado, M. C., Espín, J. C., & Selma, M. V. (2019). Deciphering the human gut microbiome of urolithin metabolotypes: association with enterotypes and potential cardiometabolic health implications. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(4), e1800958. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800958>
- Romo-Vaquero, M., García-Villalba, R., González-Sarrías, A., Beltrán, D., Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C., & Selma, M. V. (2015). Interindividual variability in the human metabolism of ellagic

- acid: Contribution of *Gordonibacter* to urolithin production. *Journal of Functional Foods*, 17, 785–791. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.040>
- Roopchand, D. E., Carmody, R. N., Kuhn, P., Moskal, K., Rojas-Silva, P., Turnbaugh, P. J., & Raskin, I. (2015). Dietary polyphenols promote growth of the gut bacterium *Akkermansia muciniphila* and attenuate high-fat diet-induced metabolic syndrome. *Diabetes*, 64(8), 2847–2858. <https://doi.org/10.2337/db14-1916>.
- Ropacki, S. A., Patel, S. M., Hartman, R. E. (2013). Pomegranate supplementation protects against memory dysfunction after heart surgery: a pilot study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 932401. <https://doi.org/10.1155/2013/932401>.
- Rothwell, J. A., Knaze, V., Zamora-Ros, R. (2017). Polyphenols: dietary assessment and role in the prevention of cancers. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 20(6), 512–521. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000424>.
- Rouleau, M., Audet-Delage, Y., Desjardins, S., Rouleau, M., Girard-Bock, C., & Guillemette, C. (2017). Endogenous protein interactome of human UDP-glucuronosyltransferases exposed by untargeted proteomics. *Frontiers In Pharmacology*, 8, 23. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00023>
- Sahyoun, N. R., Jacques, P. F., Russell, R. M. (1996). Carotenoids, vitamins C and E, and mortality in an elderly population. *American Journal of Epidemiology*, 144(5), 501–511. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a008957>.
- Saint-Pol, J., Gosselet, F., Duban-Deweer, S., Pottiez, G., Karamanos, Y. (2020). Targeting and crossing the blood-brain barrier with extracellular vesicles. *Cells*, 9, 851. <https://doi.org/10.3390/cells9040851>.
- Sajedi, N., Homayoun, M., Mohammadi, F., & Soleimani, M. (2020). Myricetin exerts its apoptotic effects on MCF-7 breast cancer cells through evoking the BRCA1-GADD45 Pathway. *Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention*, 21(12), 3461–3468. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2020.21.12.3461>
- Sallam, I. E., Abdelwareth, A., Attia, H., Aziz, R. K., Homsy, M. N., von Bergen, M., & Farag, M. A. (2021). Effect of gut microbiota biotransformation on dietary tannins and human health implications. *Microorganisms*, 9(5), 965. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9050965>
- Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M. M., Sanders, M. E., Shamir, R., Swann, J. R., Szajewska, H., & Vinderola, G. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18(9), 649–667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>
- Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Reid, G., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16(10), 605–616. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0173-3>
- Santiago-Dieppa, D. R., Steinberg, J., Gonda, D., Cheung, V. J., Carter, B. S., & Chen, C. C. (2014). Extracellular vesicles as a platform for 'liquid biopsy' in glioblastoma patients. *Expert Review Of Molecular Diagnostics*, 14(7), 819–825. <https://doi.org/10.1586/14737159.2014.943193>

- Sarkar, F. H., Li, Y. (2002). Mechanisms of cancer chemoprevention by soy isoflavone genistein. *Cancer Metastasis Reviews*, 21(3-4), 265–280. <https://doi.org/10.1023/a:1021210910821>.
- Sauvaget, C., Nagano, J., Hayashi, M., Spencer, E., Shimizu, Y., Allen, N. (2003). Vegetable and fruit intake and cancer mortality in the Hiroshima/Nagasaki life span study. *British Journal of Cancer*, 88(5), 689–694. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600775>.
- Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287–306. <https://doi.org/10.1080/10408690590906>.
- Scalbert, A., Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130(8S), 2073S–85S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2073S>.
- Scalbert, A., Andrés-Lacueva, C., Arita, M., Kroon, P., Manach, C., Urpi-Sarda, M., & Wishart, D. (2011). Databases on food phytochemicals and their health-promoting effects. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 59(9), 4331–4348. <https://doi.org/10.1021/jf200591d>
- Scheiman, J., Lubner, J. M., Chavkin, T. A., MacDonald, T., Tung, A., Pham, L. D., Wibowo, M. C., Wurth, R. C., Punthambaker, S., Tierney, B. T., Yang, Z., Hattab, M. W., Avila-Pacheco, J., Clish, C. B., Lessard, S., Church, G. M., & Kostic, A. D. (2019). Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nature Medicine*, 25(7), 1104–1109. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0485-4>
- Schiavi, E., Gleinser, M., Molloy, E., Groeger, D., Frei, R., Ferstl, R., Rodriguez-Perez, N., Ziegler, M., Grant, R., Moriarty, T. F., Plattner, S., Healy, S., O'Connell Motherway, M., Akdis, C. A., Roper, J., Altmann, F., van Sinderen, D., & O'Mahony, L. (2016). The surface-associated exopolysaccharide of *Bifidobacterium longum* 35624 plays an essential role in dampening host proinflammatory responses and repressing local Th17 responses. *Applied And Environmental Microbiology*, 82(24), 7185–7196. <https://doi.org/10.1128/AEM.02238-16>
- Scholl, C., Lepper, A., Lehr, T., Hanke, N., Schneider, K. L., Brockmöller, J., Seufferlein, T., & Stingl, J. C. (2018). Population nutrigenetics of green tea extract. *PLoS One*, 13, e0193074. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193074>.
- Sekikawa, A., Higashiyama, A., Lopresti, B. J., Ihara, M., Aizenstein, H., Watanabe, M., Chang, Y., Kakuta, C., Yu, Z., Mathis, C., Kokubo, Y., Klunk, W., Lopez, O. L., Kuller, L. H., Miyamoto, Y. & Cui, C. (2020). Associations of equol-producing status with white matter lesion and amyloid-beta deposition in cognitively normal elderly Japanese. *Alzheimer's & Dementia*, 6, e12089. <https://doi.org/10.1002/trc2.12089>.
- Sekikawa, A., Ihara, M., Lopez, O., Kakuta, C., Lopresti, B., Higashiyama, A., Aizenstein, H., Chang, Y. F., Mathis, C., Miyamoto, Y., Kuller, L., & Cui, C. (2019). Effect of S-equol and soy isoflavones on heart and brain. *Current Cardiology Reviews*, 15(2), 114–135. <https://doi.org/10.2174/1573403X15666181205104717>
- Sekikawa, A., Wharton, W., Butts, B., Veliky, C. V., Garfein, J., Li, J., Goon, S., Fort, A., Li, M., & Hughes, T. M. (2022). Potential protective mechanisms of S-equol, a metabolite of soy isoflavone by the gut microbiome, on cognitive decline and dementia. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(19), 11921. <https://doi.org/10.3390/ijms231911921>

- Selma, M. V., Beltrán, D., García-Villalba, R., Espín, J. C., & Tomás-Barberán, F. A. (2014a). Description of urolithin production capacity from ellagic acid of two human intestinal *Gordonibacter* species. *Food & Function*, 5(8), 1779–1784. <https://doi.org/10.1039/c4fo00092g>
- Selma, M. V., Beltrán, D., Luna, M. C., Romo-Vaquero, M., García-Villalba, R., Mira, A., Espín, J. C., & Tomás-Barberán, F. A. (2017). Isolation of human intestinal bacteria capable of producing the bioactive metabolite isourolithin A from ellagic acid. *Frontiers In Microbiology*, 8, 1521. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01521>
- Selma, M. V., Espín, J. C., Tomás-Barberán, F. A. (2009). Interaction between phenolics and gut microbiota: role in human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 6485–6501. <https://doi.org/10.1021/jf902107d>.
- Selma, M. V., González-Sarriás, A., Salas-Salvadó, J., Andrés-Lacueva, C., Alasalvar, C., Örem, A., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2018). The gut microbiota metabolism of pomegranate or walnut ellagitannins yields two urolithin-metabotypes that correlate with cardiometabolic risk biomarkers: Comparison between normoweight, overweight-obesity and metabolic syndrome. *Clinical Nutrition*, 37(3), 897–905. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.03.012>
- Selma, M. V., Romo-Vaquero, M., García-Villalba, R., González-Sarriás, A., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2016). The human gut microbial ecology associated with overweight and obesity determines ellagic acid metabolism. *Food & Function*, 7(4), 1769–1774. <https://doi.org/10.1039/c5fo01100k>
- Selma, M. V., Tomás-Barberán, F. A., Beltrán, D., García-Villalba, R., & Espín, J. C. (2014b). *Gordonibacter urolithinfaciens* sp. nov., a urolithin-producing bacterium isolated from the human gut. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 64(7), 2346–2352. <https://doi.org/10.1099/ijls.0.055095-0>.
- Selma, M. V., Tomás-Barberán, F. A., Beltrán, D., García-Villalba, R., & Espín, J. C. (2022). Microbial method for reproducing the human urolithin metabotypes *in vitro* and *in vivo*. European Patent EP 22382999.5.
- Senizza, A., Rocchetti, G., Mosele, J. I., Patrone, V., Callegari, M. L., Morelli, L., & Lucini, L. (2020). Lignans and gut microbiota: an interplay revealing potential health implications. *Molecules*, 25(23), 5709. <https://doi.org/10.3390/molecules25235709>
- Setchell KD, Clerici C, Lephart ED, Cole SJ, Heenan C, Castellani D, Wolfe BE, Nechemias-Zimmer L, Brown NM, Lund TD, Handa RJ, Heubi JE. (2005). S-equol, a potent ligand for estrogen receptor beta, is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(5), 1072-9. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.5.1072>.
- Setchell, K. D., Brown, N. M., & Lydeking-Olsen, E. (2002b). The clinical importance of the metabolite equol - a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *The Journal Of Nutrition*, 132(12), 3577–3584. <https://doi.org/10.1093/jn/132.12.3577>
- Setchell, K. D., Brown, N. M., Zimmer-Nechemias, L., Brashear, W. T., Wolfe, B. E., Kirschner, A. S., Heubi, J. E. (2002a). Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(2), 447–453. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.2.447>.

- Setchell, K. D., Faughnan, M. S., Avades, T., Zimmer-Nechemias, L., Brown, N. M., Wolfe, B. E., Brashear, W. T., Desai, P., Oldfield, M. F., Botting, N. P., Cassidy, A. (2003). Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of 13C-labeled tracers in premenopausal women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 77(2), 411–419. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.2.411>.
- Shahidi, F., Naczek, M. (1995). Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications. Lancaster PA: Technomic Publishing Co. Inc.
- Shahjin, F., Guda, R. S., Schaal, V. L., Odegaard, K., Clark, A., Gowen, A., Xiao, P., Lisco, S. J., Pendyala, G., & Yelamanchili, S. V. (2019). Brain-derived extracellular vesicle microRNA signatures associated with in utero and postnatal oxycodone exposure. *Cells*, 9(1), 21. <https://doi.org/10.3390/cells9010021>
- Sharma, M., Chandel, D., & Shukla, G. (2020). Antigenotoxicity and cytotoxic potentials of metabiotics extracted from isolated probiotic, *Lactobacillus rhamnosus* MD 14 on Caco-2 and HT-29 human colon cancer cells. *Nutrition And Cancer*, 72(1), 110–119. <https://doi.org/10.1080/01635581.2019.1615514>
- Sharma, P., Ludwig, S., Muller, L., Hong, C. S., Kirkwood, J. M., Ferrone, S., & Whiteside, T. L. (2018). Immunoaffinity-based isolation of melanoma cell-derived exosomes from plasma of patients with melanoma. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 7(1), 1435138. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1435138>
- Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., & Jin, B. (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 383, 132531. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>
- Shen, T., Wang, X. N., Lou, H. X. (2009). Natural Stilbenes: An Overview. *Natural Product Reports*, 26(7), 916–935. <https://doi.org/10.1039/b905960a>.
- Shenderov B. A. (2013). Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception. *Microbial Ecology In Health And Disease*, 24, 10. <https://doi.org/10.3402/mehd.v24i0.20399>
- Shimizu, M. (2017). Multifunctions of dietary polyphenols in the regulation of intestinal inflammation. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.003>.
- Siddarth, P., Li, Z., Miller, K. J., Ercoli, L. M., Merrill, D. A., Henning, S. M., Heber, D., & Small, G. W. (2020). Randomized placebo-controlled study of the memory effects of pomegranate juice in middle-aged and older adults. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 111(1), 170–177. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqz241>
- Sidhom, K., Obi, P. O., & Saleem, A. (2020). A review of exosomal isolation methods: is size exclusion chromatography the best option?. *International Journal Of Molecular Sciences*, 21(18), 6466. <https://doi.org/10.3390/ijms21186466>
- Simpson, A. M. R., De Souza, M. J., Damani, J., Rogers, C., Williams, N. I., Weaver, C., Ferruzzi, M. G., Chadwick-Corbin, S., & Nakatsu, C. H. (2022). Prune supplementation for 12 months alters

- the gut microbiome in postmenopausal women. *Food & Function*, 13(23), 12316–12329. <https://doi.org/10.1039/d2fo02273g>
- Singh, A., Andreux, P., Blanco-Bose, W., Ryu, D., Aebischer, P., Auwerx, J., & Rinsch, C. (2017). Orally administered urolithin A is safe and modulates muscle and mitochondrial biomarkers in elderly. *Innovation In Aging*, 1(1), 1223–1224. <https://doi.org/10.1093/geroni/igx004.4446>
- Singh, A., D'Amico, D., Andreux, P. A., Dunngalvin, G., Kern, T., Blanco-Bose, W., Auwerx, J., Aebischer, P., & Rinsch, C. (2022b). Direct supplementation with Urolithin A overcomes limitations of dietary exposure and gut microbiome variability in healthy adults to achieve consistent levels across the population. *European Journal Of Clinical Nutrition*, 76(2), 297–308. <https://doi.org/10.1038/s41430-021-00950-1>
- Singh, A., D'Amico, D., Andreux, P. A., Fouassier, A. M., Blanco-Bose, W., Evans, M., Aebischer, P., Auwerx, J., & Rinsch, C. (2022a). Urolithin A improves muscle strength, exercise performance, and biomarkers of mitochondrial health in a randomized trial in middle-aged adults. *Cell Reports. Medicine*, 3(5), 100633. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2022.100633>
- Singh, R., Chandrashekarappa, S., Bodduluri, S. R., Baby, B. V., Hegde, B., Kotla, N. G., Hiwale, A. A., Saiyed, T., Patel, P., Vijay-Kumar, M., Langille, M. G. I., Douglas, G. M., Cheng, X., Rouchka, E. C., Waigel, S. J., Dryden, G. W., Alatassi, H., Zhang, H. G., Haribabu, B., Vemula, P. K., ... Jala, V. R. (2019). Enhancement of the gut barrier integrity by a microbial metabolite through the Nrf2 pathway. *Nature Communications*, 10(1), 89. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07859-7>
- Skog, J., Würdinger, T., van Rijn, S., Meijer, D. H., Gainche, L., Sena-Esteves, M., Curry, W. T., Jr, Carter, B. S., Krichevsky, A. M., & Breakefield, X. O. (2008). Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nature Cell Biology*, 10(12), 1470–1476. <https://doi.org/10.1038/ncb1800>
- Slobodníková, L., Fialová, S., Rendeková, K., Kováč, J., & Mučaji, P. (2016). Antibiofilm activity of plant polyphenols. *Molecules*, 21(12), 1717. <https://doi.org/10.3390/molecules21121717>
- Sluijter, J. P. G., Davidson, S. M., Boulanger, C. M., Buzás, E. I., de Kleijn, D. P. V., Engel, F. B., Giricz, Z., Hausenloy, D. J., Kishore, R., Lecour, S., Leor, J., Madonna, R., Perrino, C., Prunier, F., Sahoo, S., Schiffelers, R. M., Schulz, R., Van Laake, L. W., Ytrehus, K., & Ferdinandy, P. (2018). Extracellular vesicles in diagnostics and therapy of the ischaemic heart: position paper from the working group on cellular biology of the heart of the european society of cardiology. *Cardiovascular Research*, 114(1), 19–34. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx211>
- Soekmadji, C., Lehman, M., An, J., et al. (2016a). Identifying extracellular vesicles-derived miRNAs in advanced prostate cancer. *Journal of Extracellular Vesicles*, 5, 31552.
- Soekmadji, C., Li, B., Huang, Y., Wang, H., An, T., Liu, C., Pan, W., Chen, J., Cheung, L., Falcon-Perez, J. M., Gho, Y. S., Holthofer, H. B., Le, M. T. N., Marcilla, A., O'Driscoll, L., Shekari, F., Shen, T. L., Torrecilhas, A. C., Yan, X., Yang, F., ... Zheng, L. (2020). The future of extracellular vesicles as theranostics - an ISEV meeting report. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 9(1), 1809766. <https://doi.org/10.1080/20013078.2020.1809766>
- Soekmadji, C., Riches, J. D., Russell, P. J., Ruelcke, J. E., McPherson, S., Wang, C., Hovens, C. M., Corcoran, N. M., Australian Prostate Cancer Collaboration BioResource, Hill, M. M., & Nelson, C. C. (2016b). Modulation of paracrine signaling by CD9 positive small extracellular vesicles

- mediates cellular growth of androgen deprived prostate cancer. *Oncotarget*, 8(32), 52237–52255. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11111>
- Soltész, B., Buglyó, G., Németh, N., Szilágyi, M., Pös, O., Szemes, T., Balogh, I., & Nagy, B. (2021). The role of exosomes in cancer progression. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 8. <https://doi.org/10.3390/ijms23010008>.
- Somiya, M., Yoshioka, Y., & Ochiya, T. (2018). Biocompatibility of highly purified bovine milk-derived extracellular vesicles. *Journal of Extracellular Vesicles*, 7, 1440132. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1440132>.
- Song, H., Liu, B., Dong, B., Xu, J., Zhou, H., Na, S., Liu, Y., Pan, Y., Chen, F., Li, L., & Wang, J. (2021). Exosome-Based Delivery of Natural Products in Cancer Therapy. *Frontiers In Cell And Developmental Biology*, 9, 650426. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.650426>
- Song, K. B., Atkinson, C., Frankenfeld, C. L., Jokela, T., Wähälä, K., Thomas, W. K., & Lampe, J. W. (2006). Prevalence of daidzein-metabolizing phenotypes differs between Caucasian and Korean American women and girls. *The Journal Of Nutrition*, 136(5), 1347–1351. <https://doi.org/10.1093/jn/136.5.1347>
- Sonnenburg, J. L., & Bäckhed, F. (2016). Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*, 535(7610), 56–64. <https://doi.org/10.1038/nature18846>.
- Sosulski, F., Krygier, K., & Hogge, L. (1982). Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 30, 337–340. <https://doi.org/10.1021/jf00110a030>
- Sparrow, R. L., & Chan, K. S. (2012). Microparticle content of plasma for transfusion is influenced by the whole blood hold conditions: pre-analytical considerations for proteomic investigations. *Journal Of Proteomics*, 76, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.07.013>
- Spencer, J. P., Abd El Mohsen, M. M., Minihane, A. M., & Mathers, J. C. (2008). Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: strengths, limitations and application in nutrition research. *British Journal of Nutrition*, 99(1), 12–22. <https://doi.org/10.1017/S0007114507798938>.
- Springer, M., & Moco, S. (2019). Resveratrol and its human metabolites-effects on metabolic health and obesity. *Nutrients*, 11(1), 143. <https://doi.org/10.3390/nu11010143>
- Sridharan, G. V., Choi, K., Klemashevich, C., Wu, C., Prabakaran, D., Pan, L. B., Steinmeyer, S., Mueller, C., Yousofshahi, M., Alaniz, R. C., Lee, K., & Jayaraman, A. (2014). Prediction and quantification of bioactive microbiota metabolites in the mouse gut. *Nature Communications*, 5, 5492. <https://doi.org/10.1038/ncomms6492>
- Stevens, J. F., & Maier, C. S. (2016). The chemistry of gut microbial metabolism of polyphenols. *Phytochemistry Reviews*, 15(3), 425–444. <https://doi.org/10.1007/s11101-016-9459-z>
- Stoll, D. A., Danylec, N., Soukup, S. T., Hetzer, B., Kulling, S. E., & Huch, M. (2021). *Adlercreutzia rubneri* sp. nov., a resveratrol-metabolizing bacterium isolated from human faeces and emended description of the genus *Adlercreutzia*. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 71(9), 004987. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004987>

- Štulíková, K., Karabín, M., Nešpor, J., & Dostálek, P. (2018). Therapeutic perspectives of 8-prenylnaringenin, a potent phytoestrogen from hops. *Molecules*, 23(3), 660. <https://doi.org/10.3390/molecules23030660>
- Su, D., Cheng, Y., Liu, M., Liu, D., Cui, H., Zhang, B., Zhou, S., Yang, T., & Mei, Q. (2013). Comparision of piceid and resveratrol in antioxida-tion and antiproliferation activities in vitro. *PLoS One*, 8(1), e54505. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054505>
- Suganuma, M., Okabe, S., Oniyama, M., Tada, Y., Ito, H., & Fujiki, H. (1998). Wide distribution of [3H](–)-epigallocatechin gallate, a cancer preventive tea polyphenol, in mouse tissue. *Carcinogenesis*, 19(10), 1771–1776. <https://doi.org/10.1093/carcin/19.10.1771>
- Sugawara, T., Sawada, D., Ishida, Y., Aihara, K., Aoki, Y., Takehara, I., Takano, K., & Fujiwara, S. (2016). Regulatory effect of paraprobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 on gut environment and function. *Microbial Ecology In Health And Disease*, 27, 30259. <https://doi.org/10.3402/mehd.v27.30259>
- Sun, D., Zhuang, X., Xiang, X., Liu, Y., Zhang, S., Liu, C., Barnes, S., Grizzle, W., Miller, D., & Zhang, H.-G. (2010). A novel nanoparticle drug delivery system: the anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Molecular Therapy*, 18, 1606–1614. <https://doi.org/10.1038/mt.2010.105>
- Sun, Y., Wu, X., Cai, X., Song, M., Zheng, J., Pan, C., Qiu, P., Zhang, L., Zhou, S., Tang, Z., & Xiao, H. (2016). Identification of pinostilbene as a major colonic metabolite of pterostilbene and its inhibitory effects on colon cancer cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(9), 1924–1932. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500989>
- Sun, Z., Harris, H. M., McCann, A., Guo, C., Argimón, S., Zhang, W., Yang, X., Jeffery, I. B., Cooney, J. C., Kagawa, T. F., Liu, W., Song, Y., Salvetti, E., Wrobel, A., Rasinkangas, P., Parkhill, J., Rea, M. C., O'Sullivan, O., Ritari, J., Douillard, F. P., ... O'Toole, P. W. (2015). Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nature Communications*, 6, 8322. <https://doi.org/10.1038/ncomms9322>
- Sung, M. M., Kim, T. T., Denou, E., Soltys, C. M., Hamza, S. M., Byrne, N. J., Masson, G., Park, H., Wishart, D. S., Madsen, K. L., Schertzer, J. D., & Dyck, J. R. (2017). Improved glucose homeostasis in obese mice treated with resveratrol is associated with alterations in the gut microbiome. *Diabetes*, 66(2), 418–425. <https://doi.org/10.2337/db16-0680>
- Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., Delzenne, N. M., & Sanders, M. E. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(11), 687–701. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2>
- Takahashi, A., Anzai, Y., Tanji, N., Imaizumi, H., Fujita, M., Hayashi, M., Abe, K. & Ohira, H. (2021). Association of equol with obesity in postmenopausal women. *Menopause*, 28, 807-810. <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000001761>
- Tan, C. Y., Lai, R. C., Wong, W., Dan, Y. Y., Lim, S. K., & Ho, H. K. (2014). Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models. *Stem Cell Research & Therapy*, 5(3), 76. <https://doi.org/10.1186/scrt465>

- Tang, G. Y., Meng, X., Li, Y., Zhao, C. N., Liu, Q., Li, H. B. (2017). Effects of vegetables on cardiovascular diseases and related mechanisms. *Nutrients*, 9(8), 857. <https://doi.org/10.3390/nu9080857>.
- Taverniti, V., & Guglielmetti, S. (2011). The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes & Nutrition*, 6(3), 261–274. <https://doi.org/10.1007/s12263-011-0218-x>
- Teka, T., Zhang, L., Ge, X., Li, Y., Han, L., & Yan, X. (2022). Stilbenes: Source plants, chemistry, biosynthesis, pharmacology, application and problems related to their clinical Application-A comprehensive review. *Phytochemistry*, 197, 113128. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113128>
- Thaiss, C. A., Zeevi, D., Levy, M., Zilberman-Schapira, G., Suez, J., Tengeler, A. C., Abramson, L., Katz, M. N., Korem, T., Zmora, N., Kuperman, Y., Biton, I., Gilad, S., Harmelin, A., Shapiro, H., Halpern, Z., Segal, E., & Elinav, E. (2014). Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis. *Cell*, 159(3), 514–529. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.048>.
- Thangaraju, M., Cresci, G. A., Liu, K., Ananth, S., Gnanaprakasam, J. P., Browning, D. D., Mellinger, J. D., Smith, S. B., Digby, G. J., Lambert, N. A., Prasad, P. D., & Ganapathy, V. (2009). GPR109A is a G-protein-coupled receptor for the bacterial fermentation product butyrate and functions as a tumor suppressor in colon. *Cancer Research*, 69(7), 2826–2832. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-4466>
- Thaung Zaw, J. J., Howe, P. R., & Wong, R. H. (2021). Long-term effects of resveratrol on cognition, cerebrovascular function and cardio-metabolic markers in postmenopausal women: A 24-month randomised, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Clinical Nutrition*, 40(3), 820–829. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.08.025>
- The 2022 Hormone Therapy Position Statement of The North American Menopause Society Advisory Panel (2023). The 2023 nonhormone therapy position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*, 30(6), 573–590. <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000002200>
- Théry, C., Witwer, K. W., Aikawa, E., Alcaraz, M. J., Anderson, J. D., Andriantsitohaina, R., Antoniou, A., Arab, T., Archer, F., Atkin-Smith, G. K., Ayre, D. C., Bach, J. M., Bachurski, D., Baharvand, H., Balaj, L., Baldacchino, S., Bauer, N. N., Baxter, A. A., Bebawy, M., Beckham, C., ... Zuba-Surma, E. K. (2018). Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 7(1), 1535750. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>
- Thomas, C. M., Hong, T., van Pijkeren, J. P., Hemarajata, P., Trinh, D. V., Hu, W., Britton, R. A., Kalkum, M., & Versalovic, J. (2012). Histamine derived from probiotic *Lactobacillus reuteri* suppresses TNF via modulation of PKA and ERK signaling. *Plos One*, 7(2), e31951. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031951>
- Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 474(11), 1823–1836. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>

- Tian, Y., Gong, M., Hu, Y., Liu, H., Zhang, W., Zhang, M., Hu, X., Aubert, D., Zhu, S., Wu, L., & Yan, X. (2019). Quality and efficiency assessment of six extracellular vesicle isolation methods by nano-flow cytometry. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 9(1), 1697028. <https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1697028>
- Tian, Y., Li, S., Song, J., Ji, T., Zhu, M., Anderson, G.J., Wei, J., & Nie, G. (2014). A doxorubicin delivery platform using engineered natural membrane vesicle exosomes for targeted tumor therapy. *Biomaterials*, 35, 2383–2390. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.083>.
- Tolleson, W. H., Doerge, D. R., Churchwell, M. I., Marques, M. M., & Roberts, D. W. (2002). Metabolism of biochanin a and formononetin by human liver microsomes *in vitro*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4783–4790. <https://doi.org/10.1021/jf025549r>.
- Tomás-Barberán F. A., & Clifford M. N. (2000b). Dietary hydroxybenzoic acid derivatives – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80(7): 1024–1032. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<1024::AID-JSFA567>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1024::AID-JSFA567>3.0.CO;2-S)
- Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2019). Effect of food structure and processing on (poly)phenol-gut microbiota interactions and the effects on human health. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 221–238. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121615>
- Tomás-Barberán, F. A., & Clifford, M. N. (2000a). Flavanones, chalcones and dihydrochalcones nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1073–1080. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<1073::AID-JSFA568>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1073::AID-JSFA568>3.0.CO;2-B)
- Tomás-Barberán, F. A., García-Villalba, R., González-Sarrías, A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2014). Ellagic acid metabolism by human gut microbiota: consistent observation of three urolithin phenotypes in intervention trials, independent of food source, age, and health status. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 62(28), 6535–6538. <https://doi.org/10.1021/jf5024615>
- Tomás-Barberán, F. A., González-Sarrías, A., García-Villalba, R., Núñez-Sánchez, M. A., Selma, M. V., García-Conesa, M. T., & Espín, J. C. (2017). Urolithins, the rescue of "old" metabolites to understand a "new" concept: Metabotypes as a nexus among phenolic metabolism, microbiota dysbiosis, and host health status. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(1), 10.1002/mnfr.201500901. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500901>
- Tomás-Barberán, F. A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2016). Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences to human health. *Current Opinion In Clinical Nutrition And Metabolic Care*, 19(6), 471–476. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000314>
- Tomé-Carneiro, J., González, M., Larrosa, M., García-Almagro, F. J., Avilés-Plaza, F., Parra, S., Yáñez-Gascón, M. J., Ruiz-Ros, J. A., García-Conesa, M. T., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2012b). Consumption of a grape extract supplement containing resveratrol decreases oxidized LDL and ApoB in patients undergoing primary prevention of cardiovascular disease: a triple-blind, 6-month follow-up, placebo-controlled, randomized trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(5), 810–821. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100673>
- Tomé-Carneiro, J., González, M., Larrosa, M., Yáñez-Gascón, M. J., García-Almagro, F. J., Ruiz-Ros, J. A., García-Conesa, M. T., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2012a). One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status

- of patients in primary prevention of cardiovascular disease. *The American Journal Of Cardiology*, 110(3), 356–363. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2012.03.030>
- Tomé-Carneiro, J., González, M., Larrosa, M., Yáñez-Gascón, M. J., García-Almagro, F. J., Ruiz-Ros, J. A., Tomás-Barberán, F. A., García-Conesa, M. T., & Espín, J. C. (2013c). Grape resveratrol increases serum adiponectin and downregulates inflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells: a triple-blind, placebo-controlled, one-year clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Cardiovascular Drugs And Therapy*, 27(1), 37–48. <https://doi.org/10.1007/s10557-012-6427-8>
- Tomé-Carneiro, J., Larrosa, M., González-Sarrías, A., Tomás-Barberán, F. A., García-Conesa, M. T., & Espín, J. C. (2013a). Resveratrol and clinical trials: the crossroad from *in vitro* studies to human evidence. *Current Pharmaceutical Design*, 19(34), 6064–6093. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990407>.
- Tomé-Carneiro, J., Larrosa, M., Yáñez-Gascón, M. J., Dávalos, A., Gil-Zamorano, J., González, M., García-Almagro, F. J., Ruiz Ros, J. A., Tomás-Barberán, F. A., Espín, J. C., & García-Conesa, M. T. (2013b). One-year supplementation with a grape extract containing resveratrol modulates inflammatory-related microRNAs and cytokines expression in peripheral blood mononuclear cells of type 2 diabetes and hypertensive patients with coronary artery disease. *Pharmacological Research*, 72, 69–82. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2013.03.011>
- Tomé-Carneiro, J., Fernández-Alonso, N., Tomás-Zapico, C., Visioli, F., Iglesias-Gutiérrez, E., & Dávalos, A. (2018). Breast milk microRNAs harsh journey towards potential effects in infant development and maturation. Lipid encapsulation can help. *Pharmacological Research*, 132, 21–32. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.04.003>.
- Torrey J. C. (1919). The regulation of the intestinal flora of dogs through diet. *The Journal Of Medical Research*, 39(3), 415–447.
- Tousen, Y., Ezaki, J., Fujii, Y., Ueno, T., Nishimuta, M., & Ishimi, Y. (2011). Natural S-equol decreases bone resorption in postmenopausal, non-equol-producing Japanese women: a pilot randomized, placebo-controlled trial. *Menopause*, 18(5), 563–574. <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e3181f85aa7>
- Truchado, P., Giménez-Bastida, J. A., Larrosa, M., Castro-Ibáñez, I., Espín, J. C., Tomás-Barberán, F. A., García-Conesa, M. T., & Allende, A. (2012). Inhibition of quorum sensing (QS) in *Yersinia enterocolitica* by an orange extract rich in glycosylated flavanones. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 60(36), 8885–8894. <https://doi.org/10.1021/jf301365a>.
- Tsao, D., Diatchenko, L., & Dokholyan, N. V. (2011). Structural mechanism of S-adenosyl methionine binding to catechol O-methyltransferase. *Plos One*, 6(8), e24287. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024287>
- Tsilingiri, K., & Rescigno, M. (2013). Postbiotics: what else? *Beneficial Microbes*, 4(1), 101–107. <https://doi.org/10.3920/BM2012.0046>
- Tung, W. C., Rizzo, B., Dabbagh, Y., Saraswat, S., Romanczyk, M., Codorniu-Hernández, E., Rebollido-Rios, R., Needs, P. W., Kroon, P. A., Rakotomanomana, N., Dangles, O., Weikel, K., & Vinson, J. (2020). Polyphenols bind to low density lipoprotein at biologically relevant concentrations that

- are protective for heart disease. *Archives Of Biochemistry And Biophysics*, 694, 108589. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108589>
- Turati, F., Rossi, M., Pelucchi, C., Levi, F., & La Vecchia, C. (2015). Fruit and vegetables and cancer risk: a review of southern european studies. *British Journal of Nutrition*, 113 Suppl 2, S102–S110. <https://doi.org/10.1017/S0007114515000148>.
- Tytgat, H. L., Douillard, F. P., Reunanen, J., Rasinkangas, P., Hendrickx, A. P., Laine, P. K., Paulin, L., Satokari, R., & de Vos, W. M. (2016). *Lactobacillus rhamnosus* GG outcompetes *Enterococcus faecium* via mucus-binding pili: evidence for a novel and heterospecific probiotic mechanism. *Applied And Environmental Microbiology*, 82(19), 5756–5762. <https://doi.org/10.1128/AEM.01243-16>
- Tzounis, X., Vulevic, J., Kuhnle, G. G., George, T., Leonczak, J., Gibson, G. R., Kwik-Urbe, C., & Spencer, J. P. (2008). Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *The British Journal Of Nutrition*, 99(4), 782–792. <https://doi.org/10.1017/S0007114507853384>.
- U.S. Department of Health and Human Services and U.S. Department of Agriculture (2015). 2015 – 2020 Dietary Guidelines for Americans. 8th Edition. Disponible en <https://health.gov/our-work/food-nutrition/previous-dietary-guidelines/2015>.
- Ueno, T. & Uchiyama, S. (2002). Identification of the specific intestinal bacteria capable of metabolising soy isoflavone to equol. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 45, 114.
- Usman, W. M., Pham, T. C., Kwok, Y. Y., Vu, L. T., Ma, V., Peng, B., Chan, Y. S., Wei, L., Chin, S. M., Azad, A., He, A. B., Leung, A. Y. H., Yang, M., Shyh-Chang, N., Cho, W. C., Shi, J., & Le, M. T. N. (2018). Efficient RNA drug delivery using red blood cell extracellular vesicles. *Nature Communications*, 9(1), 2359. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04791-8>
- Usui, T., Tochiya, M., Sasaki, Y., Muranaka, K., Yamakage, H., Himeno, A., Shimatsu, A., Inaguma, A., Ueno, T., Uchiyama, S., & Satoh-Asahara, N. (2013). Effects of natural S-equol supplements on overweight or obesity and metabolic syndrome in the Japanese, based on sex and equol status. *Clinical Endocrinology*, 78(3), 365–372. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2012.04400.x>
- Vader, P., Mol, E. A., Pasterkamp, G., & Schiffelers, R. M. (2016). Extracellular vesicles for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 106, 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.02.006>
- Vallejo, F., Larrosa, M., Escudero, E., Zafrilla, M. P., Cerdá, B., Boza, J., García-Conesa, M. T., Espín, J. C., & Tomás-Barberán, F. A. (2010). Concentration and solubility of flavanones in orange beverages affect their bioavailability in humans. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 58(10), 6516–6524. <https://doi.org/10.1021/jf100752j>
- Vallejo, F., Yuste, J. E., Teruel-Montoya, R., Luengo-Gil, G., Bohdan, N., Espín, S., García-Barberá, N., Martínez, C., Vicente, V., Espín, J. C., & Martínez-Martínez, I. (2019). First exploratory study on the metabolome from plasma exosomes in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Thrombosis Research*, 183, 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2019.10.001>

- van Balkom, B. W., Eisele, A. S., Pegtel, D. M., Bervoets, S., & Verhaar, M. C. (2015). Quantitative and qualitative analysis of small RNAs in human endothelial cells and exosomes provides insights into localized RNA processing, degradation and sorting. *Journal of Extracellular Vesicles*, 4, 26760. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.26760>.
- van der Vlist, E. J., Nolte-'t Hoen, E. N., Stoorvogel, W., Arkesteijn, G. J., & Wauben, M. H. (2012). Fluorescent labeling of nano-sized vesicles released by cells and subsequent quantitative and qualitative analysis by high-resolution flow cytometry. *Nature Protocols*, 7(7), 1311–1326. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.065>
- van Duynhoven, J., Vaughan, E. E., Jacobs, D. M., Kemperman, R. A., van Velzen, E. J., Gross, G., Roger, L. C., Possemiers, S., Smilde, A. K., Doré, J., Westerhuis, J. A., & Van de Wiele, T. (2011). Metabolic fate of polyphenols in the human superorganism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(1), 4531–4538. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000098107>
- van Niel, G., D'Angelo, G., & Raposo, G. (2018). Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(4), 213–228. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.125>
- Vázquez, L., Cabrera-Rubio, R., Tamames, J., Mayo, B., & Flórez, A. B. (2023). Assessment of short-read shotgun sequencing and microbiome analysis of faecal samples to discriminate between equol producers and non-producers. *Beneficial Microbes*, 1–14. <https://doi.org/10.3920/BM2022.0027>
- Vázquez, L., Flórez, A. B., Redruello, B., & Mayo, B. (2020). Metabolism of Soy Isoflavones by Intestinal Bacteria: Genome Analysis of an *Adlercreutzia Equolifaciens* Strain That Does Not Produce Equol. *Biomolecules*, 10, 950. <https://doi.org/10.3390/biom10060950>.
- Védrine, N., Mathey, J., Morand, C., Brandolini, M., Davicco, M. J., Guy, L., Rémésy, C., Coxam, V., & Manach, C. (2006). One-month exposure to soy isoflavones did not induce the ability to produce equol in postmenopausal women. *European Journal of Clinical Nutrition*, 60, 1039–1045. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602415>.
- Vella, L. J., Scicluna, B. J., Cheng, L., Bawden, E. G., Masters, C. L., Ang, C. S., Williamson, N., McLean, C., Barnham, K. J., & Hill, A. F. (2017). A rigorous method to enrich for exosomes from brain tissue. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 6(1), 1348885. <https://doi.org/10.1080/20013078.2017.1348885>
- Vila-Liante, V., Sánchez-López, V., Martínez-Sales, V., Ramón-Núñez, L. A., Arellano-Orden, E., Cano-Ruiz, A., Rodríguez-Martorell, F. J., Gao, L., & Otero-Candelera, R. (2016). Impact of sample processing on the measurement of circulating microparticles: storage and centrifugation parameters. *Clinical Chemistry And Laboratory Medicine*, 54(11), 1759–1767. <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0036>
- Vitrac, X., Desmoulière, A., Brouillaud, B., Krisa, S., Deffieux, G., Barthe, N., Rosenbaum, & J., Mérillon, J. M. (2003). Distribution of [14C]-trans-resveratrol, a cancer chemopreventive polyphenol, in mouse tissues after oral administration. *Life Sciences*, 72(20), 2219–2233. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(03\)00096-1](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(03)00096-1).

- Vogt, L., Ramasamy, U., Meyer, D., Pullens, G., Venema, K., Faas, M. M., Schols, H. A., & de Vos, P. (2013). Immune modulation by different types of β 2 $\rightarrow$ 1-fructans is toll-like receptor dependent. *Plos One*, 8(7), e68367. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068367>
- Wallace, T. C., Bailey, R. L., Blumberg, J. B., Burton-Freeman, B., Chen, C. O., Crowe-White, K. M., Drewnowski, A., Hooshmand, S., Johnson, E., Lewis, R., Murray, R., Shapses, S. A., & Wang, D. D. (2020). Fruits, vegetables, and health: a comprehensive narrative, umbrella review of the science and recommendations for enhanced public policy to improve intake. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(13), 2174–2211. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1632258>.
- Wallace, T. C., Blumberg, J. B., Johnson, & E. J., Shao, A. (2015). Dietary bioactives: establishing a scientific framework for recommended intakes. *Advances in Nutrition*, 6(1), 1–4. <https://doi.org/10.3945/an.114.007294>.
- Walle T. (2011). Bioavailability of resveratrol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1215, 9–15. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05842.x>
- Walle, T., Eaton, E. A., & Walle, U. K. (1995). Quercetin, a potent and specific inhibitor of the human P-form phenosulfotransferase. *Biochemical Pharmacology*, 50(5), 731–734. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(95\)00190-b](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00190-b).
- Walle, T., Hsieh, F., DeLegge, M. H., Oatis, J. E., Jr, & Walle, U. K. (2004). High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metabolism And Disposition: The Biological Fate Of Chemicals*, 32(12), 1377–1382. <https://doi.org/10.1124/dmd.104.000885>
- Wallen, Z. D., Demirkan, A., Twa, G., Cohen, G., Dean, M. N., Standaert, D. G., Sampson, T. R., & Payami, H. (2022). Metagenomics of Parkinson's disease implicates the gut microbiome in multiple disease mechanisms. *Nature Communications*, 13(1), 6958. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34667-x>
- Wan, M. L. Y., Co, V. A., & El-Nezami, H. (2021). Dietary polyphenol impact on gut health and microbiota. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 61(4), 690–711. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1744512>
- Wang, D., Hang, T., Wu, C., & Liu, W. (2005). Identification of the major metabolites of resveratrol in rat urine by HPLC-MS/MS. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 829(1-2), 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.09.040>
- Wang, H., & LeCluyse, E. L. (2003). Role of orphan nuclear receptors in the regulation of drug-metabolising enzymes. *Clinical Pharmacokinetics*, 42(15), 1331–1357. <https://doi.org/10.2165/00003088-200342150-00003>.
- Wang, M., Lu, Y., Wu, Q., Chen, G., Zhao, H., Ho, C. T., & Li, S. (2023). Biotransformation and gut microbiota-mediated bioactivity of flavonols. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 71(22), 8317–8331. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c01087>
- Wang, P., & Sang, S. (2018). Metabolism and pharmacokinetics of resveratrol and pterostilbene. *BioFactors*, 44(1), 16–25. <https://doi.org/10.1002/biof.1410>

- Wang, P., Gao, J., Ke, W., Wang, J., Li, D., Liu, R., Jia, Y., Wang, X., Chen, X., Chen, F., & Hu, X. (2020). Resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed mice via modulating the composition and metabolic function of the gut microbiota. *Free Radical Biology & Medicine*, 156, 83–98. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.04.013>
- Wang, S., Charbonnier, L. M., Noval Rivas, M., Georgiev, P., Li, N., Gerber, G., Bry, L., & Chatila, T. A. (2015). MyD88 adaptor-dependent microbial sensing by regulatory T cells promotes mucosal tolerance and enforces commensalism. *Immunity*, 43(2), 289–303. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.06.014>.
- Wang, X. L., Kim, H. J., Kang, S. I., Kim, S. I., & Hur, H. G. (2007). Production of phytoestrogen S-equol from daidzein in mixed culture of two anaerobic bacteria. *Archives Of Microbiology*, 187(2), 155–160. <https://doi.org/10.1007/s00203-006-0183-8>
- Wang, X., Ouyang, Y., Liu, J., Zhu, M., Zhao, G., Bao, W., & Hu, F. B. (2014). Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ*, 349, g4490. <https://doi.org/10.1136/bmj.g4490>.
- Watson, R. R., & Preedy, V. R. (2015). Probiotics, prebiotics, and syn-biotics: Bioactive foods in health promotion. In Amsterdam: Academic Press.
- Weng, Y., Sui, Z., Shan, Y., Hu, Y., Chen, Y., Zhang, L., & Zhang, Y. (2016). Effective isolation of exosomes with polyethylene glycol from cell culture supernatant for in-depth proteome profiling. *The Analyst*, 141(15), 4640–4646. <https://doi.org/10.1039/c6an00892e>
- Whiteman, D., Muir, J., Jones, L., Murphy, M., Key, T. (1999). Dietary questions as determinants of mortality: The OXCHECK Experience. *Public Health Nutrition*, 2(4), 477–487. <https://doi.org/10.1017/s136898009900066x>.
- WHO (2002). The World Health Report 2002: Reducing risks, promoting healthy life. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Williams, A. M., Dennahy, I. S., Bhatti, U. F., Halaweish, I., Xiong, Y., Chang, P., ... & Kozar, R. A. (2019). Mesenchymal stem cell-derived exosomes provide neuroprotection and improve long-term neurologic outcomes in a swine model of traumatic brain injury and hemorrhagic shock. *Journal of Neurotrauma*, 36, 54-60. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.5711>
- Williamson G. (2017). The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutrition Bulletin*, 42(3), 226–235. <https://doi.org/10.1111/nbu.12278>
- Williamson, G., Barron, D., Shimoi, K., & Terao, J. (2005). *In vitro* biological properties of flavonoid conjugates found *in vivo*. *Free Radical Research*, 39(5), 457–469. <https://doi.org/10.1080/10715760500053610>.
- Williamson, G., Kay, C. D., & Crozier, A. (2018). The bioavailability, transport, and bioactivity of dietary flavonoids: a review from a historical perspective. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 17(5), 1054–1112. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12351>

- Willms, E., Cabañas, C., Mäger, I., Wood, M. J. A., & Vader, P. (2018). Extracellular vesicle heterogeneity: subpopulations, isolation techniques, and diverse functions in cancer progression. *Frontiers In Immunology*, 9, 738. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00738>
- Winter, J., Moore, L. H., Dowell, V. R., Jr, & Bokkenheuser, V. D. (1989). C-ring cleavage of flavonoids by human intestinal bacteria. *Applied And Environmental Microbiology*, 55(5), 1203–1208. <https://doi.org/10.1128/aem.55.5.1203-1208.1989>.
- Winter, J., Popoff, M. R., Grimont, P., & Bokkenheuser, V. D. (1991). *Clostridium orbiscindens* sp. nov., a human intestinal bacterium capable of cleaving the flavonoid C-ring. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 41(3), 355–357. <https://doi.org/10.1099/00207713-41-3-355>.
- Wisgrill, L., Lamm, C., Hartmann, J., Preißing, F., Dragosits, K., Bee, A., Hell, L., Thaler, J., Ay, C., Pabinger, I., Berger, A., & Spittler, A. (2016). Peripheral blood microvesicles secretion is influenced by storage time, temperature, and anticoagulants. *Cytometry. Part A: The Journal Of The International Society For Analytical Cytology*, 89(7), 663–672. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.22892>
- Witwer, K. W., & Théry, C. (2019). Extracellular vesicles or exosomes? On primacy, precision, and popularity influencing a choice of nomenclature. *Journal of Extracellular Vesicles*, 8, 1648167. <https://doi.org/10.1080/20013078.2019.1648167>
- Witwer, K. W., Buzás, E. I., Bemis, L. T., Bora, A., Lässer, C., Lötvall, J., Nolte-'t Hoen, E. N., Piper, M. G., Sivaraman, S., Skog, J., Théry, C., Wauben, M. H., & Hochberg, F. (2013). Standardization of sample collection, isolation and analysis methods in extracellular vesicle research. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 2. <https://doi.org/10.3402/jev.v2i0.20360>
- Wolf, T., Baier, S. R., & Zemleni, J. (2015). The intestinal transport of bovine milk exosomes is mediated by endocytosis in human colon carcinoma Caco-2 cells and rat small intestinal IEC-6 cells. *The Journal Of Nutrition*, 145(10), 2201–2206. <https://doi.org/10.3945/jn.115.218586>
- Wong, R. H., Thaung Zaw, J. J., Xian, C. J., & Howe, P. R. (2020). Regular supplementation with resveratrol improves bone mineral density in postmenopausal women: a randomized, placebo-controlled trial. *Journal Of Bone And Mineral Research*, 35(11), 2121–2131. <https://doi.org/10.1002/jbmr.4115>
- Wu, B., Kulkarni, K., Basu, S., Zhang, S., & Hu, M. (2011a). First-pass metabolism via UDP-glucuronosyltransferase: a barrier to oral bioavailability of phenolics. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 100(9), 3655–3681. <https://doi.org/10.1002/jps.22568>
- Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y. Y., Keilbaugh, S. A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W. A., Knight, R., Sinha, R., Gilroy, E., Gupta, K., Baldassano, R., Nessel, L., Li, H., Bushman, F. D., & Lewis, J. D. (2011b). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 334(6052), 105–108. <https://doi.org/10.1126/science.1208344>.
- Wu, J., Oka, J., Ezaki, J., Ohtomo, T., Ueno, T., Uchiyama, S., Toda, T., Uehara, M., & Ishimi, Y. (2007). Possible role of equol status in the effects of isoflavone on bone and fat mass in postmenopausal Japanese women: a double-blind, randomized, controlled trial. *Menopause*, 14(5), 866–874. <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e3180305299>

- Würsch, P., del Vedovo, S., Rosset, J., & Smiley, M. (1984). The tannin granules from ripe carob pod. *Lebens Wiss Techno*1, 17, 351-4.
- Xian, W., Yang, S., Deng, Y., Yang, Y., Chen, C., Li, W., & Yang, R. (2021). Distribution of urolithins metabotypes in healthy chinese youth: difference in gut microbiota and predicted metabolic pathways. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 69(44), 13055–13065. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c04849>
- Xian, W., Yang, S., Deng, Y., Yang, Y., Tan, Z., Li, W., & Yang, R. (2022). Potential of establishing the corresponding human microbial community in pseudo germ-free mice through fecal microbe transfer from three urolithin metabotypes. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 70(30), 9388–9398. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c02796>
- Xu, Y., Qin, S., An, T., Tang, Y., Huang, Y., & Zheng, L. (2017). MiR-145 detection in urinary extracellular vesicles increase diagnostic efficiency of prostate cancer based on hydrostatic filtration dialysis method. *The Prostate*, 77(10), 1167–1175. <https://doi.org/10.1002/pros.23376>
- Yan, F., Liu, L., Dempsey, P. J., Tsai, Y. H., Raines, E. W., Wilson, C. L., Cao, H., Cao, Z., Liu, L., & Polk, D. B. (2013). A *Lactobacillus rhamnosus* GG-derived soluble protein, p40, stimulates ligand release from intestinal epithelial cells to transactivate epidermal growth factor receptor. *The Journal Of Biological Chemistry*, 288(42), 30742–30751. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.492397>
- Yan, Y., Jiang, W., Tan, Y., Zou, S., Zhang, H., Mao, F., Gong, A., Qian, H., & Xu, W. (2017). hucMSC exosome-derived GPX1 is required for the recovery of hepatic oxidant injury. *Molecular Therapy*, 25(2), 465–479. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2016.11.019>
- Yang, C. S., Chen, L., Lee, M. J., Balentine, D., Kuo, M. C., & Schantz, S. P. (1998). Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 7(4), 351–354.
- Yano, J. M., Yu, K., Donaldson, G. P., Shastri, G. G., Ann, P., Ma, L., Nagler, C. R., Ismagilov, R. F., Mazmanian, S. K., & Hsiao, E. Y. (2015). Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell*, 161(2), 264–276. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.047>.
- Yáñez-Mó, M., Siljander, P. R., Andreu, Z., Zavec, A. B., Borràs, F. E., Buzas, E. I., Buzas, K., Casal, E., Cappello, F., Carvalho, J., Colás, E., Cordeiro-da Silva, A., Fais, S., Falcon-Perez, J. M., Ghobrial, I. M., Giebel, B., Gimona, M., Graner, M., Gursel, I., Gursel, M., ... De Wever, O. (2015). Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 4, 27066. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.27066>
- Yao, M., Fei, Y., Zhang, S., Qiu, B., Zhu, L., Li, F., Berglund, B., Xiao, H., & Li, L. (2022). Gut microbiota composition in relation to the metabolism of oral administrated resveratrol. *Nutrients*, 14(5), 1013. <https://doi.org/10.3390/nu14051013>
- Yatsunencko, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Baldassano, R. N., Anokhin, A. P., Heath, A. C., Warner, B., Reeder, J., Kuczynski, J., Caporaso, J. G., Lozupone, C. A., Lauber, C., Clemente, J. C., Knights, D., Knight, R., ... Gordon, J. I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486(7402), 222–227. <https://doi.org/10.1038/nature11053>.

- Yelin, I., Flett, K. B., Merakou, C., Mehrotra, P., Stam, J., Snesrud, E., Hinkle, M., Lesho, E., McGann, P., McAdam, A. J., Sandora, T. J., Kishony, R., & Priebe, G. P. (2019). Genomic and epidemiological evidence of bacterial transmission from probiotic capsule to blood in ICU patients. *Nature Medicine*, 25(11), 1728–1732. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0626-9>
- Yeo, R. W. Y., & Lim, S. K. (2015). Exosomes and their therapeutic applications. In *Advances in Pharmaceutical Cell Therapy*, 477–501. https://doi.org/10.1142/9789814616799_0015
- Yokoyama, S., Niwa, T., Osawa, T., & Suzuki, T. (2010). Characterization of an O-desmethylangolensin-producing bacterium isolated from human feces. *Archives Of Microbiology*, 192(1), 15–22. <https://doi.org/10.1007/s00203-009-0524-5>.
- Yoshikata, R., Myint, K. Z. Y., & Ohta, H. (2018). Effects of equol supplement on bone and cardiovascular parameters in middle-aged japanese women: a prospective observational study. *Journal Of Alternative And Complementary Medicine*, 24(7), 701–708. <https://doi.org/10.1089/acm.2018.0050>
- Yoshikata, R., Myint, K. Z. Y., Ohta, H., & Ishigaki, Y. (2021). Effects of an equol-containing supplement on advanced glycation end products, visceral fat and climacteric symptoms in postmenopausal women: A randomized controlled trial. *Plos One*, 16(9), e0257332. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257332>
- Yoshikata, R., Myint, K. Z., Ohta, H., & Ishigaki, Y. (2019). Interrelationship between diet, lifestyle habits, gut microflora, and the equol-producer phenotype: baseline findings from a placebo-controlled intervention trial. *Menopause*, 26, 273-285. <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000001202>.
- Yuan, D., Zhao, Y., Banks, W. A., Bullock, K. M., Haney, M., Batrakova, E. V., & Kabanov, A. V. (2017). Macrophage exosomes as natural nanocarriers for protein delivery to inflamed brain. *Biomaterials*, 142, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.07.011>
- Yuan, J. P., Wang, J. H., & Liu, X. (2007). Metabolism of dietary soy isoflavones to equol by human intestinal microflora--implications for health. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(7), 765–781. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600262>.
- Yuana, Y., Böing, A. N., Grootemaat, A. E., van der Pol, E., Hau, C. M., Cizmar, P., Buhr, E., Sturk, A., & Nieuwland, R. (2015). Handling and storage of human body fluids for analysis of extracellular vesicles. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 4, 29260. <https://doi.org/10.3402/jev.v4.29260>
- Zamani, P., Fereydouni, N., Butler, A.E., Navashenaq, J.G., & Sahebkar, A. (2019). The therapeutic and diagnostic role of exosomes in cardiovascular diseases. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 29, 313–323. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2018.10.010>.
- Zeevi, D., Korem, T., Zmora, N., Israeli, D., Rothschild, D., Weinberger, A., Ben-Yacov, O., Lador, D., Avnit-Sagi, T., Lotan-Pompan, M., Suez, J., Mahdi, J. A., Matot, E., Malka, G., Kosower, N., Rein, M., Zilberman-Schapira, G., Dohnalová, L., Pevsner-Fischer, M., Bikovsky, R., ... Segal, E. (2015). Personalized nutrition by prediction of glycemic responses. *Cell*, 163(5), 1079–1094. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.11.001>
- Zhan, J., Liu, Y. J., Cai, L. B., Xu, F. R., Xie, T., & He, Q. Q. (2017). Fruit and vegetable consumption and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Critical Reviews*

- in Food Science and Nutrition*, 57(8), 1650–1663. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1008980>.
- Zhang, B., Xu, Y., Lv, H., Pang, W., Wang, J., Ma, H., & Wang, S. (2021b). Intestinal pharmacokinetics of resveratrol and regulatory effects of resveratrol metabolites on gut barrier and gut microbiota. *Food Chemistry*, 357, 129532. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129532>
- Zhang, L. X., Li, C. X., Kakar, M. U., Khan, M. S., Wu, P. F., Amir, R. M., Dai, D. F., Naveed, M., Li, Q. Y., Saeed, M., Shen, J. Q., Rajput, S. A., & Li, J. H. (2021c). Resveratrol (RV): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112164. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112164>
- Zhang, L., Wang, Y., Li, D., Ho, C. T., Li, J., & Wan, X. (2016a). The absorption, distribution, metabolism and excretion of procyanidins. *Food & Function*, 7(3), 1273–1281. <https://doi.org/10.1039/c5fo01244a>
- Zhang, X., Veliky, C. V., Birru, R. L., Barinas-Mitchell, E., Magnani, J. W., & Sekikawa, A. (2021a). Potential Protective Effects of Equol (Soy Isoflavone Metabolite) on coronary heart diseases-From Molecular Mechanisms to Studies in Humans. *Nutrients*, 13(11), 3739. <https://doi.org/10.3390/nu13113739>
- Zhang, C., Derrien, M., Levenez, F., Brazeilles, R., Ballal, S. A., Kim, J., Degivry, M. C., Quéré, G., Garault, P., van Hylckama Vlieg, J. E., Garrett, W. S., Doré, J., & Veiga, P. (2016b). Ecological robustness of the gut microbiota in response to ingestion of transient food-borne microbes. *The ISME Journal*, 10(9), 2235–2245. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.13>
- Zhao, C., Wang, Y., Zhang, B., Yue, Y., & Zhang, J. (2020). Genetic variations in catechol-O-methyltransferase gene are associated with levodopa response variability in Chinese patients with Parkinson's disease. *Scientific Reports*, 10, 9521. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65332-2>
- Zhao, X., Wu, D., Ma, X., Wang, J., Hou, W., & Zhang, W. (2020). Exosomes as drug carriers for cancer therapy and challenges regarding exosome uptake. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 128, 110237. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110237>.
- Zheng, W., Ma, Y., Zhao, A., He, T., Lyu, N., Pan, Z., Mao, G., Liu, Y., Li, J., Wang, P., Wang, J., Zhu, B., & Zhang, Y. (2019). Compositional and functional differences in human gut microbiome with respect to equol production and its association with blood lipid level: a cross-sectional study. *Gut Pathogens*, 11, 20. <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0297-6>
- Zhernakova, A., Kurilshikov, A., Bonder, M. J., Tigchelaar, E. F., Schirmer, M., Vatanen, T., Mujagic, Z., Vila, A. V., Falony, G., Vieira-Silva, S., Wang, J., Imhann, F., Brandsma, E., Jankipersadsing, S. A., Joossens, M., Cenit, M. C., Deelen, P., Swertz, M. A., LifeLines cohort study, Weersma, R. K., ... Fu, J. (2016). Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science*, 352(6285), 565–569. <https://doi.org/10.1126/science.aad3369>.
- Zhou, W., Fong, M. Y., Min, Y., Somlo, G., Liu, L., Palomares, M. R., Yu, Y., Chow, A., O'Connor, S. T., Chin, A. R., Yen, Y., Wang, Y., Marcusson, E. G., Chu, P., Wu, J., Wu, X., Li, A. X., Li, Z., Gao, H., Ren, X., ... Wang, S. E. (2014). Cancer-secreted miR-105 destroys vascular endothelial barriers to promote metastasis. *Cancer Cell*, 25(4), 501–515. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.03.007>

- Zhou, Y. G., Mohamadi, R. M., Poudineh, M., Kermanshah, L., Ahmed, S., Safaei, T. S., Stojcic, J., Nam, R. K., Sargent, E. H., & Kelley, S. O. (2016). Interrogating circulating microsomes and exosomes using metal nanoparticles. *Small*, 12(6), 727–732. <https://doi.org/10.1002/smll.201502365>
- Zhou, J., Deng, Y., Luo, F., He, Z., Tu, Q., Zhi, X., & Relman, D. A. (2010). Functional molecular ecological networks. *mBio*, 1, e00169-10. <https://doi.org/10.1128/mBio.00169-10>
- Zhu, X., Badawi, M., Pomeroy, S., Sutaria, D. S., Xie, Z., Baek, A., Jiang, J., Elgamal, O. A., Mo, X., Perle, K., Chalmers, J., Schmittgen, T. D., & Phelps, M. A. (2017). Comprehensive toxicity and immunogenicity studies reveal minimal effects in mice following sustained dosing of extracellular vesicles derived from HEK293T cells. *Journal Of Extracellular Vesicles*, 6(1), 1324730. <https://doi.org/10.1080/20013078.2017.1324730>