

INTERACCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS DEL VINO CON LA MICROBIOTA INTESTINAL: PAPEL DE LAS BACTERIAS LÁCTICAS

Carolina Cueva Sánchez, Begoña Bartolomé y M. Victoria Moreno-Arribas

Departamento de Biotecnología y Microbiología de los Alimentos, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), CSIC-UAM, C/Nicolás Cabrera 9, Campus de la Universidad Autónoma de Madrid, 28049 Madrid, España

Correo electrónico: carolina.cueva@csic.es

1. Composición de la microbiota intestinal

El intestino humano es el hábitat natural de una población numerosa, diversa y dinámica de microorganismos, principalmente bacterias anaerobias, que se han adaptado a la vida en superficies mucosas en la luz del intestino (Guarner y Malagelada, 2003). El término “microbiota” hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos reunidos en un nicho ecológico determinado. El ecosistema microbiano del intestino incluye especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal, y una variedad de microorganismos vivos que transitan temporalmente por el tubo digestivo (Guarner, 2007). Las bacterias nativas se adquieren al nacer y durante el primer año de vida, mientras que las bacterias en tránsito se ingieren continuamente a través de los alimentos, bebidas, etc.

La población de bacterias a lo largo del intestino varía tanto en número como en composición de especies, existiendo también una gran variabilidad interindividual debido a factores como la edad, la dieta, el estrés y las enfermedades (Salminen y col., 1998; Kleessen y col., 2000). En el estómago y el duodeno, el número de microorganismos se ve reducido debido a las secreciones ácidas, biliares y pancreáticas; según se avanza en el intestino delgado, disminuye la acidez debido a la dilución de los ácidos, lo que facilita la colonización bacteriana, llegando a 10^{12} CFU/mL (CFU: unidades formadoras de colonias¹) en el colon, que es donde se encuentra la concentración más alta. Entre los grupos bacterianos más abundantes en esta zona destacan miembros de los géneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*,

¹ Es una medida del número de microorganismos vivos presentes en una muestra. La medida se basa en el supuesto de que una célula es capaz de reproducirse por división hasta dar lugar a una colonia visible en una placa de cultivo. El recuento del número de colonias obtenidas a partir de la siembra de un volumen conocido de muestra permite estimar el número de microorganismos vivos en la misma.

Eubacterium, *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Fusobacterium* (Guarner, 2007), mientras que en menor proporción encontramos *Enterococcus* y representantes de la familia *Enterobacteriaceae* (Guarner, 2006).

La gran biodiversidad de especies dentro del ecosistema intestinal facilita la vida y el desarrollo del conjunto, que incluye no sólo a las comunidades bacterianas, sino también al anfitrión humano. Estudios con mamíferos criados bajo condiciones de estricta asepsia han puesto de manifiesto la influencia de la microbiota intestinal en el desarrollo del aparato digestivo y el sistema inmune, entre otros. Por tanto, se podría decir que la relación entre la microbiota intestinal y el hombre es de simbiosis, de manera que el anfitrión proporciona 'hábitat y nutrición', y la microbiota contribuye de modo importante a la 'fisiología del anfitrión'.

2. Funciones de la microbiota intestinal

La microbiota intestinal desempeña un papel fundamental para el hospedador humano. Entre sus funciones se encuentra la de nutrición y metabolismo, protección y funciones tróficas.

A nivel metabólico, la microbiota entérica es capaz de fermentar compuestos no digeribles de la dieta, lo que se traduce en una recuperación de energía para la proliferación bacteriana, y en la producción de ácidos orgánicos de cadena corta que disminuyen el pH del medio intestinal, facilitando a su vez la absorción de iones (Blaut y Clavel, 2007). Las funciones metabólicas también incluyen la producción de vitaminas (K, B12, biotina, ácido fólico y pantoténico) e isoprenoides (Walter y col., 2006) y la síntesis de aminoácidos a partir del amoníaco o la urea.

En cuanto a la función defensiva de la microbiota, incluye el denominado "efecto barrera", por el cual las bacterias que ocupan un espacio o un nicho ecológico impiden la implantación de microorganismos extraños al ecosistema. Este efecto se debe a la capacidad de ciertas bacterias, entre las que destacan las bacterias lácticas, para segregar sustancias antimicrobianas (bacteriocinas), que inhiben la proliferación de bacterias patógenas, y también a la competición entre bacterias por los recursos del sistema, ya sean nutrientes o espacios ecológicos (Liévin-Le Moal y Servin, 2006).

Por último, las bacterias intestinales también pueden controlar la proliferación y diferenciación de las células epiteliales. En las criptas colónicas de animales criados en condiciones de estricta asepsia se observa una disminución del recambio de células epiteliales en comparación con animales control colonizados por microbiota convencional (Falk y col., 1998). La diferenciación celular en el epitelio está sumamente influida por la interacción con los microorganismos residentes, como se demuestra en estudios con animales, donde la expresión de ciertos genes está asociada a cepas bacterianas específicas (Hooper y col., 2001). Las bacterias también desempeñan un papel esencial en el desarrollo del sistema inmunitario. Los animales criados en condiciones de asepsia estricta muestran baja concentración de células linfoides en la mucosa del intestino delgado; la estructura de los folículos linfoides está atrofiada; y la concentración de las inmunoglobulinas circulantes es anormalmente baja. Estos efectos revierten tras la exposición a microbiota convencional (Yamanaka y col., 2003; Helgeland y col., 2004).

Grupos bacterianos presentes en el intestino: bacterias lácticas

Actualmente, existen cada vez más evidencias de la influencia que ejerce la microbiota intestinal en la salud del hombre, la cual va a depender en gran medida de los grupos bacterianos que colonicen el intestino. Así, en el intestino grueso las bacterias pueden dividirse en 3 grupos de acuerdo al efecto que pueden desempeñar en la salud del hombre. En un primer grupo, estarían aquellas bacterias que pueden producir efectos perjudiciales; en un segundo grupo, estarían las que pueden ejercer un efecto beneficioso; y por último, estarían aquellas que pueden tener ambos efectos (Gibson, 1998; Salminen y col., 1998). Es obvio que mantener un balance adecuado en el ecosistema, siempre a favor de las bacterias beneficiosas, es fundamental para nuestra salud.

Las bacterias indeseables incluyen, entre otras, especies de los géneros *Clostridium*, *Staphylococcus* y *Veillonella*. Estas especies originan sustancias potencialmente perjudiciales, tales como productos putrefactos, toxinas y carcinógenos (Gibson y Roberfroid, 1995; Salminen y col., 1998; Guarner y Malagelada, 2003) (Figura 1), que pueden causar efectos como diarrea, infecciones, daño en el hígado, carcinogénesis y putrefacción intestinal, entre otros (Gibson, 1998).

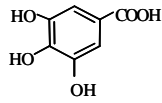
es interesante para establecer estrategias de alimentación que, mediante la modulación de la microbiota intestinal contribuyan a la prevención de las enfermedades.

3. Compuestos fenólicos

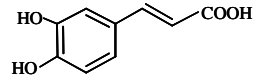
Los compuestos fenólicos o polifenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. En las uvas, los polifenoles se encuentran localizados principalmente en el hollejo y las pepitas, y pasan a los vinos durante la elaboración de los mismos. Desde el punto de vista químico, el término “polifenol” engloba a un grupo muy heterogéneo de compuestos, que se caracterizan por presentar un anillo aromático con al menos una sustitución hidroxilo y una cadena lateral funcional. Según su estructura química, se subdividen en dos grandes grupos de compuestos: los flavonoides (antocianos, flavonoles, flavanoles monoméricos y oligoméricos, y taninos condensados o proantocianidinas), y los no flavonoides (ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, alcoholes fenólicos, y estilbenos) (Monagas y col., 2005) (Figura 2). La concentración de estos compuestos en los vinos está condicionada por diversos factores relacionados con la uva y las prácticas enológicas.

NO FLAVONOIDES

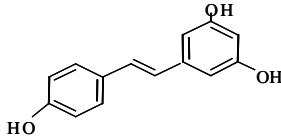
Ácido Gálico (ácido hidroxibenzoico)



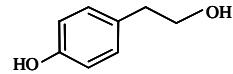
Ácido Cafeico (ácido hidroxicinámico)



trans-Resveratrol (estilbeno)

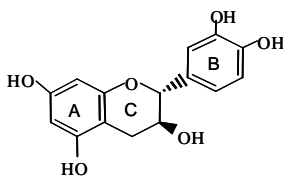


Tirosol (alcohol fenólico)

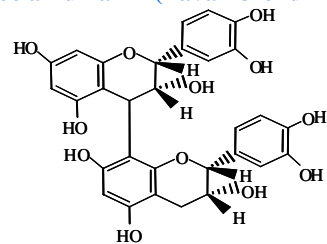


FLAVONOIDES

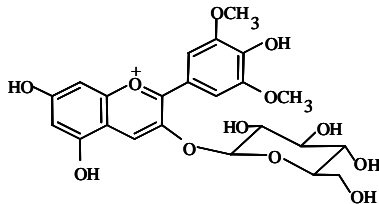
(+)-Catequina (flavan-3-ol monomérico)



Procianidina B2 (flavan-3-ol dimérico)



Malvidín-3-O-Glucósido (antocianina)



Quercetín-3-O-Glucósido (flavonol)

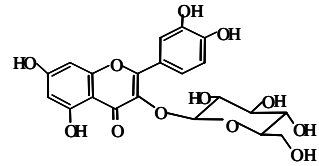


Figura 2. Estructura química de los principales compuestos fenólicos presentes en el vino.

4. Interacción de los polifenoles del vino con la microbiota intestinal

El tránsito de los alimentos a través del estómago y del intestino delgado, es demasiado rápido como para que la microbiota existente en estos órganos ejerza un impacto importante en el organismo humano, sin embargo, en el colon el tránsito es más lento, lo que brinda a los microorganismos la oportunidad de proliferar fermentando los sustratos derivados de la dieta o de las secreciones endógenas (Guarner, 2007). Los polifenoles, como compuestos de la dieta que son, pueden interaccionar con la microbiota intestinal. Se considera que esta interacción es bidireccional, es decir, que las bacterias del intestino pueden metabolizar los compuestos fenólicos, pero al mismo tiempo el crecimiento y capacidad metabólica de dichas bacterias puede verse afectado por los propios compuestos fenólicos y/o sus metabolitos (Requena y col., 2010).

El metabolismo de los polifenoles comienza en la boca y continúa a lo largo del tracto gastrointestinal, sin embargo, se estima que alrededor del 90-95% de los polifenoles de la dieta se acumulan en el colon (Clifford, 2004), donde son metabolizados por la microbiota intestinal, dando lugar a toda una serie de ácidos fenólicos que pueden tener mayor actividad a nivel fisiológico que los precursores (Monagas y col., 2010; Williamson y Clifford, 2010), y que también pueden ser absorbidos, aumentando de esta manera su biodisponibilidad (Aura, 2008; Selma y col., 2009). Además, diversos estudios sugieren que podrían producir cambios en la población microbiana del colon, afectando en conjunto a la diversidad y actividad metabólica de la microbiota intestinal (Ozkan y col., 2004; Lee y col., 2006; Alakomi y col., 2007).

En relación al efecto de los polifenoles del vino sobre la microbiota del colon, estudios con cultivos puros y con sistemas de fermentación sugieren un efecto inhibitorio de estos compuestos en el crecimiento de microorganismos patógenos intestinales como *Salmonella* spp, *Clostridium perfringens* y *Clostridium histolyticum* (Ozkan y col., 2004; Dolara y col., 2005, Lee y col., 2006, Tzounis y col., 2008), así como una tendencia a no afectar y/o aumentar el crecimiento de los considerados microorganismos beneficiosos como *Lactobacillus* spp y *Bifidobacterium* spp (Lee y col., 2006; Tzounis y col., 2008).

En base a estos resultados preliminares, nuestro grupo de investigación ha evaluado la capacidad de los polifenoles del vino, y de sus metabolitos microbianos, de modular la microbiota bacteriana del colon, mediante un abordaje a varios niveles, que implica la utilización de cultivos bacterianos puros, que nos permiten evaluar el efecto de determinadas estructuras fenólicas sobre microorganismos de interés; en segundo lugar se han llevado a cabo estudios de fermentación *in vitro* que tienen en cuenta la complejidad de la microbiota intestinal y el metabolismo, y por último, se ha realizado un estudio con heces procedentes de voluntarios sanos, que contempla la variabilidad entre individuos. A continuación se resumen los resultados más relevantes obtenidos en estos estudios.

Dentro de los compuestos fenólicos mayoritarios del vino que alcanzan el colon destacan los oligómeros y polímeros de flavan-3-ol, también conocidos con el nombre de proantocianidinas o taninos condensados. El metabolismo de los flavan-3-oles a cargo de la microbiota genera toda una serie de ácidos fenólicos y otros compuestos que, como se mencionó anteriormente, podrían tener mayor actividad a nivel fisiológico que los precursores. Es por ello, que nuestro primer objetivo se centró en evaluar, el efecto de flavan-3-oles presentes en el vino y de ácidos fenólicos procedentes de su metabolismo microbiano,

sobre microorganismos beneficiosos, inocuos y patógenos que colonizan el intestino. Los resultados de este estudio han revelado la capacidad de los ácidos fenólicos, en especial de los ácidos benzoico, fenilacético y fenilpropiónico, para inhibir selectivamente el crecimiento de colonizadores habituales del intestino como *E. coli* y las bacterias lácticas, así como otros microorganismos patógenos oportunistas (Cueva y col., 2010). En cuanto a los precursores de los ácidos fenólicos, los monómeros y dímeros de flavan-3-oles, sólo resultaron activos frente a las bacterias más susceptibles. La mayor actividad antimicrobiana de los ácidos fenólicos en comparación con sus precursores coincide con lo descrito en la bibliografía por otros autores (Lee y col., 2006; Taguri y col., 2006; Rodríguez-Vaquero y col., 2007).

Para confirmar el potencial efecto modulador de los ácidos fenólicos, se precisa de estudios que tengan en cuenta la complejidad y diversidad de la microbiota intestinal, siendo los sistemas de fermentación *in vitro* con heces humanas los que reflejan, de manera más fehaciente, las condiciones reales a nivel de colon, que como se ha mencionado anteriormente, es el lugar donde se producen las principales transformaciones de los polifenoles de la dieta. Para estos ensayos se seleccionaron extractos fenólicos de pepita de uva que contenían uno de los tipos principales de compuestos flavonoideos de los vinos, esto es, los flavan-3-oles; y un extracto de vino tinto, que contenía flavan-3-oles y antocianinas. El estudio de los extractos fenólicos de pepita de uva incluía un extracto propiamente dicho, así como dos fracciones purificadas a partir del mismo que diferían en su composición en flavan-3-oles monoméricos y diméricos. La novedad de estos ensayos con respecto a estudios previos de catabolismo microbiano de flavan-3-oles ha sido que, además de monitorizar los metabolitos formados en el transcurso de la fermentación, también se ha evaluado la desaparición de sus compuestos precursores. Esto, unido a la evaluación del efecto de los extractos sobre la microbiota intestinal, proporciona una visión integrada de la interacción entre los polifenoles del vino y la microbiota intestinal.

Los resultados relativos al catabolismo de los extractos fenólicos por la microbiota intestinal han mostrado que, en general, la degradación de los flavan-3-oles precursores y las antocianinas (en el caso del extracto de vino tinto), tiene lugar en las etapas iniciales de la fermentación (0-10 h). Transcurrido este período, y coincidiendo con la desaparición de los precursores, se produce un aumento en la concentración de toda una serie de metabolitos intermediarios y de ácidos fenólicos, entre los que destacan la 5-(3',4'-dihidroxifenil)- γ -valerolactona y el ácido 4-hidroxi-5-(3'4'-hidroxifenil)-valérico, y los ácidos 3-(3,4-dihidroxifenil)-propiónico, 3,4-dihidroxifenilacético, 4-hidroximandélico y gálico, los cuales,

conforme avanza la fermentación, sufren reacciones de deshidroxilación originando las formas monohidroxiladas y sin hidroxilar de dichos metabolitos (Sánchez-Patán y col., 2012a). Por otro lado, el análisis de las fracciones fenólicas de pepita de uva ha revelado que la composición fenólica influye en la velocidad y grado de degradación de los flavan-3-oles a cargo de la microbiota (Cueva y col., 2012a). No obstante, y a pesar del evidente catabolismo de los compuestos fenólicos del vino por la microbiota intestinal, apenas existe información acerca de las bacterias responsables de dicho proceso. En este sentido, Tabasco y col. (2011) han demostrado la capacidad de una bacteria láctica, *Lactobacillus plantarum*, para metabolizar un extracto de pepita de uva enriquecido en flavan-3-oles gracias a sus actividades galoil esterasa, descarboxilasa y alcohol bencil deshidrogenasa. En esta línea, Kutschera y col. (2011) han encontrado que dos bacterias aisladas del intestino humano, *Eggerthella lenta* y *Flavonifractor plautii*, poseen actividades enzimáticas complementarias para la degradación de los flavan-3-oles (+)-catequina y (-)-epicatequina. No obstante, y a pesar del actual desconocimiento acerca de las bacterias implicadas en el metabolismo de los polifenoles, estos primeros resultados sugieren que, dentro de la microbiota intestinal, las bacterias lácticas podrían desempeñar un papel fundamental en la bioactividad de los polifenoles.

A su vez, los cambios en el perfil metabólico están acompañados de cambios en las poblaciones bacterianas. En líneas generales, los extractos de pepita de uva tienden a promover el crecimiento de las bacterias beneficiosas, como son el grupo de los lactobacilos/enterococos, y a disminuir el de las bacterias perjudiciales como *Clostridium histolyticum*. Sin embargo, otros grupos bacterianos intestinales, como *Bifidobacterium* spp, *Bacteroides* spp, no ven modificado su crecimiento por efecto de los compuestos fenólicos (Cueva y col, 2012a). Estos resultados están en consonancia con los obtenidos por Tzounis y col. (2008, 2011) para la (+)-catequina y un extracto de cacao enriquecido en flavan-3-oles, los cuales disminuyen significativamente el crecimiento de *C. histolyticum* y aumentan el de *Lactobacillus* spp. Por tanto, existe una clara tendencia de los compuestos fenólicos de la pepita de uva para modular la microbiota intestinal a favor de las bacterias beneficiosas, lo cual en última instancia podría contribuir a prevenir el desarrollo de algunas enfermedades asociadas con alteraciones en la composición de la microbiota como es el cáncer de colon (Bik y col., 2009; Joly y col., 2010). Por otro lado, el extracto de vino tinto sólo produce una ligera inhibición del grupo de *C. histolyticum*, lo que probablemente se debe a que su contenido en flavan-3-oles es inferior al necesario para provocar cambios significativos en la microbiota (Sánchez-Patán y col., 2012b).

Actualmente, la mayoría de los estudios sobre el efecto de los polifenoles en la microbiota intestinal se han centrado en la población de bacterias predominantes en el intestino, esto es, la población anaerobia, sin prestar atención al efecto que dichos compuestos tendrían dentro de la población anaerobia facultativa y/o aerobia, que aunque minoritaria, es la que está sujeta a una mayor variabilidad entre individuos. Es por ello que el último abordaje de nuestro estudio se centró en comprobar si dentro de la población anaerobia facultativa y/o aerobia del intestino existían bacterias tolerantes a los polifenoles del vino. Los resultados han mostrado que, en general, las bacterias intestinales, incluidas algunas especies de bacterias lácticas, presentan una gran tolerancia a los polifenoles del vino, la cual está a su vez condicionada por factores intrínsecos de cada cepa así como a la variabilidad interindividual de los voluntarios (Cueva y col., 2012b).

En conjunto, los resultados de nuestras investigaciones confirman el potencial efecto modulador de los polifenoles del vino sobre la microbiota humana.

5. Conclusiones y perspectivas

En la actualidad, los consumidores están cada vez más concienciados de la importancia que tiene una alimentación equilibrada y segura sobre la salud. Esta preocupación ha hecho que, en los últimos años, aumenten las investigaciones científicas encaminadas a demostrar las propiedades saludables de muchos alimentos. En este marco, destaca el reciente interés por conocer la influencia de determinados componentes de la dieta en la microbiota intestinal, y en especial en relación con las bacterias lácticas, ya que se ha visto que determinadas enfermedades intestinales podrían estar relacionadas con modificaciones en la composición y/o actividad de las bacterias intestinales. En el caso concreto de los polifenoles del vino, los estudios llevados a cabo hasta el momento ponen de manifiesto su capacidad para modular selectivamente la microbiota intestinal, favoreciendo el crecimiento de las bacterias lácticas, que son conocidas por ejercer un efecto beneficioso sobre la salud del hombre. No obstante, son necesarios más estudios que traten de dilucidar los mecanismos de acción de los compuestos fenólicos sobre las bacterias intestinales, así como la identificación de las bacterias responsables de su metabolismo, a fin de profundizar en el conocimiento del efecto de los compuestos fenólicos sobre la microbiota intestinal y de su repercusión en la salud humana.

6. Referencias

- Alakomi, H.L., Puupponen-Pimia, R., Aura, A.-M., Helander, I.M., Nohynek, L., Oksman-Caldentey, K.-M., Saarela, M. (2007). Weakening of Salmonella with selected microbial metabolites of berry-derived phenolic compounds and organic acids. *J. Agric. Food Chem.* 55: 3905-3912.
- Aura, A.-M. (2008). Microbial metabolism of dietary phenolic compounds. *Phytochem. Rev.*, 7: 407-429.
- Bik, E.M. (2009) Composition and function of the human-associated microbiota. *Nutr. Rev.* 67 (suppl. 2), s164-s171.
- Blaut, M., Clavel, T. (2007). Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. *J. Nutr.* 137: 751S-755S.
- Clifford, M.N. (2004). Diet-derived phenols in plasma and tissues and their implication for health. *Planta Med.* 70: 1103-1114.
- Cueva, C., Moreno-Arribas, M.V., Requena, T., Rodríguez, J.M., Vicente, F., Basilio, A., Bills, G.F., Martín-Álvarez, P.J., Bartolomé, B. (2010). Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Res. Microbiol.*, 161, 372-382.
- Cueva, C., Sánchez-Patán, F., Monagas, M., Walton, G. E., Gibson, G. R., Martín-Álvarez, P.J., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M.V. (2012a). *In vitro* fermentation of grape seed flavan-3-ol fractions by human faecal microbiota: changes in microbial groups and phenolic metabolites (enviado para su publicación).
- Cueva, C., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M.V., Bustos, I., Requena, T., Manzano, S., Santos-Buelga, C., Turrientes, C., del Campo, R. (2012b). Isolation and identification of human faecal bacteria-tolerant to wine polyphenols (enviado para su publicación).
- Dolara, P., Arrigucci, S., Cassetta, M. I., Fallani, S., Novelli, A. (2005). Inhibitory activity of diluted wine on bacterial growth: The secret of water purification in antiquity. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 26: 338-340.
- Falk, P.G., Hooper, L.V., Midtvedt, T., Gordon, J.I. (1998). Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: What we know and need to know from gnotobiology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 1157-1170.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota – Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 125: 1401-1412.
- Gibson, G.R. (1998). Dietary modulation of the human gut microflora using prebiotics. *Br. J. Nutr.* 80 (suppl.2): s209-s212.

- Guarner, F., Malagelada, J.R. (2003). Gut flora in health and disease. *Lancet*. 360: 512-519.
- Guarner, F. (2006). Enteric flora in health and disease. *Digest*. 73 (suppl. 1): 5-12.
- Guarner, F. (2007). Role of intestinal flora in health and disease. *Nutrición Hospitalaria*. 22 (suppl. 2):14-19.
- Helgeland, L., Dissen, E., Dai, K.-Z., Midtvedt, T., Brandtzaeg, P., Vaage, J.T. (2004). Microbial colonization induces oligoclonal expansions of intraepithelial CD8 T cells in the gut. *Eur. J. Immunol*. 34: 3389-3400.
- Hooper, L.V., Gordon, J.I. (2001). Glycans as legislators of host-microbial interactions: Spanning the spectrum from symbiosis to pathogenicity. *Glycobiol*. 11: 1R-10R.
- Joly, F., Mayeur, C., Bruneau, A., Noordine, M.L., Meylheuc, T., Langella, P., Messing, B., Duée, P.H., Cherbuy, C., Thomas, M. (2010). Drastic changes in fecal and mucosa-associated microbiota in adult patients with short bowel syndrome. *Biochimie*. 92: 753-761.
- Kleessen, B., Bezirtzoglou, E., Matto, J. (2000). Culture-based knowledge on biodiversity, development and stability of human gastrointestinal microflora. *Microb. Ecol. Health*. 12: 53-63.
- Kutschera, M., Engst, W., Blaut, M., Braune, A. (2011). Isolation of catechin-converting human intestinal bacteria. *J. Appl. Microbiol*. 111: 165-175.
- Lee, H.C., Jenner, A.M., Low, C.S., Lee, Y.K. (2006). Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. *Res. Microbiol*. 157: 876-884.
- Ley, R.E., Turnbaugh, P.J., Klein, S., Gordon, J.I. (2006). Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 444: 1022-1023.
- Liévin-Le Moal, V., Servin, A.L. (2006). The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: Mucins, antimicrobial peptides, and Microbiota. *Clin. Microbiol. Rev*. 19: 315-337.
- Manichanh, C., Rigottier-Gois, L., Bonnaud, E., Gloux, K., Pelletier, E., Frangeul, L., Nalin, R., Jarrin, C., Chardon, P., Marteau, P., Roca, J., Dore, J. (2006). Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut*. 55: 205-211.
- Monagas, M., Bartolomé, B., Gómez-Cordovés, C. (2005). Updated knowledge of phenolic compounds in wine. *Crit. Rev. Food Sci.Nutr.*, 45: 85-118.
- Monagas, M., Urpi-Sarda, M., Sanchez-Patan, F., Llorach, R., Garrido, I., Gomez-Cordoves, C., Andres-Lacueva, C., Bartolome, B. (2010). Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and the bioactivity of their metabolites. *Food Funct*. 1: 233-253.
- Ozkan, G., Sagdiç, O., Baydar, N.G., Kurumahmutoglu, Z. (2004). Antibacterial activities and total phenolic contents of grape pomace extracts. *J. Sci. Food Agric*. 84: 1807-1811.

- Rastall, R.A., Gibson, G.R., Gill, H.S., Guarner, F., Klaenhammer, T.R., Pot, B., Reid, G, Rowland, I.R., Sanders, M.E. (2005). Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and symbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiol. Ecol.* 52: 145-152.
- Requena, T., Monagas, M., Pozo-Bayón, M.A., Martín-Álvarez, P.J., Bartolomé, B., del Campo, R.; Ávila, M., Martínez-Cesta, M.C., Peláez, C., Moreno-Arribas, M.V. (2010). Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota. *Trends Food Sci. Technol.*, 21: 332-342.
- Rodríguez-Vaquero, M.J., Alberto, M.R., Manca de Nadra, M.C. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control.* 18: 93-101.
- Salminen, S., Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., Vos, W.M., Fonden, R., Saxelin, M., Collins, K., Mogensen, G., Birkeland, S.E., Mattila-Sandholm, T. (1998). Demonstration of safety of probiotics-a review. *Int. J. Food Microbiol.* 44: 93-106.
- Sánchez-Patán, F., Cueva, C., Monagas, M., Walton, G.E., Gibson, G.R. Martín-Álvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V., Bartolomé, B. (2012a). Gut microbial catabolism of grape seed flavan-3-ols by human faecal microbiota. Targetted analysis of precursor compounds, intermediate metabolites and end-products. *Food Chem.*, 131, 337-347.
- Sánchez-Patán, F., Cueva, C., Monagas, M., Walton, G.E., Gibson, G.R., Quintanilla-López, J., Lebrón-Aguilar, E. R., Martín-Álvarez, P. J., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M.V. (2012b). *In vitro* fermentation of a red wine extract by human gut microbiota: changes in microbial groups and formation of phenolic metabolites (aceptado).
- Selma, M.V., Espín, J.C., Tomás-Barberán, F.A. (2009). Interaction between phenolics and gut microbiota: Role in human health. *J. Agric. Food Chem.* 57: 6485-6501.
- Tabasco, R., Sánchez-Patán, F., Monagas, M., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M.V., Peláez, C., Requena, T. (2011). Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: Resistance and metabolism. *Food Microbiol.* 28: 1345-1352.
- Taguri, T., Tanaka, T., Kouno, I. (2006). Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Bio. Pharm. Bull.* 29: 2226-2235.
- Tzounis, X., Vulevic, J., Kuhnle, G.C., George, T., Leonczak, J., Gibson, G.R., Kwik-Urbe, C., Spencer, P.E. (2008). Flavonol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *Br. J. Nutr.* 99: 782-792.
- Tzounis, X., Rodriguez-Mateos, A., Vulevic, J., Gibson, G.R., Kwik-Urbe, C., Spencer, J.P.E. (2011). Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. *Am. J. Clin. Nutr.* 93: 62-72.

- Ventura, M., O'Flaherty, S., Claesson, M.J., Turrioni, F., Klaenhammer, T.R., van Sinderen, D., O'Toole, P.W. (2009). Genome-scale analyses of health-promoting bacteria: probiogenomics. *Nat. Rev. Microbiol.* 7: 61-71.
- Williamson, G., Clifford, M.N. (2010). Colonic metabolites of berry polyphenols: the missing link to biological activity? *Br. J. Nutr.* 104: s48-s66.
- Walter, A., Cerdeno-Tarraga, A., Bentley, S. (2006). Faecal matters. *Nature Rev. Microbiol.* 4: 572-573.
- Yamanaka, T., Helgeland, L., Farstad, I.N., Fukushima, H., Midtvedt, T., Brandtzaeg, P. (2003). Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches. *J. Immunol.* 170: 816-822.

Los autores agradecen la financiación recibida por el Ministerio de Ciencia e Innovación, actual Ministerio de Economía y Competitividad, a través de los proyectos AGL2006-04514/ALI y AGL2009-13361-C02. Asimismo, agradecen a la Red-BAL la oportunidad de difundir los resultados procedentes de nuestra investigación