

## Valore nutraceutico dei flavonoidi presenti nel genere *Citrus*

*Evidenze epidemiologiche, cliniche e pre-cliniche degli effetti protettivi dei Citrus flavanoni sulle funzioni cardiovascolari*

**Lara Testai, Vincenzo Calderone**

Dipartimento di Farmacia e Centro Interdipartimentale di Nutraceutica e Alimentazione per la Salute, Università di Pisa  
lara.testai@farm.unipi.it

**Parole chiave** Flavonoidi del genere *Citrus*, Beneficio cardiovascolare, Valore nutraceutico

### SUMMARY

#### **Nutraceutical value of flavonoids present in *Citrus* fruits**

*Epidemiological, clinical and pre-clinical evidences of the protective effects of Citrus flavanones on cardiovascular functions*

*Flavonoids present in Citrus fruits (made up for 95% of flavanones) are emerging for their considerable nutraceutical value. Epidemiological, clinical and pre-clinical evidence show that intake of Citrus fruits significantly reduces the incidence of cardiovascular diseases. In this paper, we analyze studies that examine their beneficial properties, attempting to highlight the most important action mechanisms.*

### Riassunto

I flavonoidi presenti nei frutti del genere *Citrus* (costituiti per il 95% da flavanoni) stanno emergendo per il loro notevole valore nutraceutico. Evidenze epidemiologiche, cliniche e pre-cliniche dimostrano che l'assunzione di frutti appartenenti al genere *Citrus* riduce, in modo significativo, l'incidenza delle patologie cardiovascolari. In questo articolo si dà una disamina degli studi che prendono in esame le loro proprietà benefiche, tentando di dar spazio anche al chiarimento dei più importanti meccanismi d'azione.

### Introduzione

Le patologie cardiovascolari sono la principale causa di malattia e morte nei Paesi industrializzati e i farmaci cardiovascolari si confermano la categoria di maggior consumo. Dunque le patologie del sistema cardiovascolare rimangono l'ambito terapeutico e sanitario che riguarda il maggior numero di pazienti nel mondo; perciò la possibilità di disporre di approcci nutraceutici di provata validità, che abbiano ripercussioni positive sulla funzione cardiaca al fine di arrivare ad una riduzione dell'incidenza e letalità da patologie cardiovascolari è un traguardo ricercato.

A tal proposito, i flavonoidi sono importanti costituenti dotati di notevoli proprietà benefiche che l'uomo assume attraverso la dieta, ingerendo frutta e verdura. Alcuni di questi sono presenti solo in specifici cibi, mentre altri sono distribuiti in un buon numero di alimenti; in genere, sono distinti in base alle caratteristiche strutturali in 6 sotto-classi: flavonoli, flavoni, iso-flavoni, flavanoni, antocianine e flavanoli (catechine e proantocianidine).

In particolare, considerando l'abbondanza di flavanoni nei frutti e nei succhi di frutta del genere *Citrus* (il 95% del titolo in flavonoidi è rappresentato da questa sotto-classe) possiamo senza dubbio affermare che questi cibi rappresentano la principale fonte di flavanoni, sebbene non sia l'unica, visto che buone quantità del flavanone naringenina, ad esempio, sono presenti anche nel pomodoro.

In natura i flavanoni del genere *Citrus* si trovano in forma glicosidata, avendo una porzione di-saccaridica legata in posizione 7 alla porzione agliconica; d'altra parte la natura della porzione agliconica dipende molto dal tipo di frutto. Quindi lo stesso aglicone può essere combinato con diverse porzioni zuccherine dando origine a flavanoni diversi; ad esempio, nel pompelmo i flavanoni più rappresentati sono narirutina e naringina, nell'arancia esperidina e narirutina, nel limone eriocitrina.

Narirutina e naringina hanno in comune l'aglicone naringenina, esperidina è il glicoside della esperetina, eriocitrina contiene l'aglicone eriodictiolo.

Questi flavanoni sono particolarmente concentrati nell'albedo e nelle membrane che separano gli spicchi piuttosto che nella polpa; secondo quanto riportato da Peterson e suoi colleghi, nell'arancia i glicosidi flavanonici sono presenti nel range tra 35 e 147 mg/100 g, d'altra parte nel pompelmo i glicosidi della naringenina sono presenti nel range tra 44 e 106 mg/100 g (1).

Tuttavia, poiché l'albedo e le parti membranacee in genere vengono scartate per preparare i succhi di frutta, l'effettiva quantità di flavanoni sarà più bassa; secondo una stima proposta da Tomas-Barbean e Clifford infatti i livelli di esperidina e narirutina nel succo di arancia variano tra 13 e 77 mg/100 mg, ancora Ross et al riportano che i livelli di naringenina nel succo di pompelmo variano tra 17 e 76 mg/100 ml (2). In Europa l'arancia, come tale o sotto forma di succo, è il frutto *Citrus* sicuramente più consumato, quindi si può dire che questo frutto rappresenta la principale fonte di *Citrus* flavanoni.

Flavanoni O-glicosilati sono presenti in tutte le cultivar di arancia, sia nella varietà rossa o pig-

mentata che in quella bionda o non-pigmentata; sebbene i contenuti più alti siano stati rilevati nelle varietà pigmentate, dove come caratteristica di unicità sono presenti anche buone quantità di antocianine.

## Benefici cardiovascolari dei Citrus flavanoni

Evidenze epidemiologiche, cliniche e studi pre-clinici suggeriscono che i flavanoni presenti nel genere *Citrus* contribuiscono alla prevenzione delle malattie cardiovascolari. Diversi studi prospettici hanno riportato una correlazione inversa tra consumo di frutti del genere *Citrus* e rischio di patologie cardiovascolari (3-6).

In particolare un recente studio epidemiologico condotto dal Nurses's Healthy Study su quasi 70000 donne ha messo in evidenza una inversa correlazione tra intake di flavanoni e rischio di ischemia cerebrale, che diventa significativo quando si confrontano le donne che assumono alti quantitativi di flavanoni (>63 mg/die a quelle che ne assumono bassi quantitativi (<13,7 mg/die) (7). Un altro studio prospettico realizzato in Finlandia su circa 10000 uomini e donne ha rivelato una riduzione del 20% nell'incidenza di malattie cerebrovascolari in coloro che assumono i quantitativi più alti di flavanoni (4,7-26,8 mg aglicone/die).

Analoghi risultati sono stati ottenuti da uno studio di coorte realizzato in Giappone, dove i frutti del genere *Citrus* rappresentano oltre il 30% del consumo annuale di frutta (8).

Una recentissima meta-analisi che ha preso in esame tre trials

clinici randomizzati ha dimostrato che l'assunzione di pompelmo è correlata con una piccola ma significativa riduzione dei valori di pressione sanguigna, e poiché il principale costituente è il flavanone naringina, gli Autori hanno suggerito che tali effetti benefici potrebbero essere legati ad esso (9).

## Effetti sui parametri cardiovascolari

*Riduzione della disfunzione endoteliale*

Nell'ambito della valutazione del rischio di patologie cardiovascolari, è ampiamente riportata l'associazione tra ipertensione e disfunzione endoteliale, così come alterazione dell'integrità endoteliale e inizio dei processi aterosclerotici; perciò è importante sia assicurare l'integrità che la reattività dello strato endoteliale, al fine di ridurre la progressione delle patologie cardiovascolari.

I trial clinici ad oggi disponibili indicano una chiara correlazione tra assunzione di flavanoni presenti nel genere *Citrus*, vasodilatazione e riduzione della disfunzione endoteliale. In particolare nel 2005 Reshef e suoi colleghi hanno osservato che il trattamento per 5 settimane di pazienti con ipertensione lieve-moderata, con succhi di frutta ad alto contenuto di flavonoidi tipici del genere *Citrus*, risultava in una significativa riduzione dei valori di pressione diastolica. In linea con questo studio, più di recente, è stato dimostrato che il trattamento per 4 settimane con esperidina (292 mg, corrispondente ai livelli presenti in 500 ml di succo di arancia), era responsabile della riduzione di pressione diastolica nell'ordine di 4 mmHg. Inoltre l'ingestione di esperidina migliorava la reattività postprandiale dell'endotelio microvascolare, effetti che sono strettamente correlati con

l'innalzamento dei livelli plasmatici di esperitina (10). A conferma ulteriore di queste osservazioni, recentemente un altro *trial* controllato suggeriva che una dieta di 3 settimane con 500 mg di esperidina riduceva l'espressione di sE-selectina, *biomarker* della disfunzione endoteliale (11).

#### *Riduzione dei livelli lipidici*

Diversi studi preclinici confermano che i flavanoni possono influenzare la progressione dell'aterosclerosi; in particolare un supplemento di naringina (0,1-0,5%) a conigli alimentati con una dieta caratterizzata da alti livelli di colesterolo, riduceva del 60-70% l'estensione delle lesioni aterosclerotiche (12,13); analogamente un altro gruppo di ricerca dimostrava che topi alimentati con alti valori di colesterolo e naringina (0,02%, quantità corrispondente a mezzo pompelmo) mostravano una riduzione del 41% della placca aterosclerotica se confrontati con gli animali alimentati soltanto con colesterolo (14).

Su individui sani la somministrazione di 400 mg/die di naringina per 2 mesi abbassava i livelli di LDL e colesterolo e incrementava i livelli di HDL (15). Inoltre, in individui con sindrome metabolica, il supplemento di 500 mg di esperidina per 3 settimane riduceva i livelli di colesterolo e ApoB (11). A conferma, nel 2012 uno studio eseguito in Spagna su pazienti con diagnosi di sindrome metabolica dimostrava che dopo 6 mesi di trattamento con un succo di frutta costituito per il 95% da frutti del genere *Citrus*, anche se il profilo glicemico non subiva variazioni, il profilo lipidico appariva migliorato, come testimoniato dalla diminuzione dei livelli di colesterolo, LDL ed HDL, oltre che dei livelli di proteina C-reattiva, ben noto *marker* infiammatorio (16). Accanto a questi risultati incoraggianti, il quadro non è al-

trettanto univoco se consideriamo soggetti ipercolesterolemici. Da una parte uno studio eseguito su 25 volontari con alti livelli di LDL e colesterolo riportava che l'assunzione del succo d'arancia bionda (200 ml per 3 volte al giorno) per 4 settimane riduceva i livelli plasmatici di *marker* di stress ossidativo e anche i livelli di ApoA (17). In accordo con questo, recentemente uno studio prospettico a sei mesi, realizzato in Italia, dimostrava che l'assunzione dell'estratto di bergamotto (corrispondente a 150 mg di flavonoidi, costituiti dal 16% neoericitrina, 47% neoesperidina e 37% naringina) contribuiva a ridurre i livelli plasmatici di lipidi e migliorava il profilo lipoproteico in pazienti con moderata ipercolesterolemia (18). Per contro, in un *trial* clinico, 500 mg di naringina e 800 mg di esperidina non sono stati capaci di migliorare significativamente il quadro lipidico (19). Simili risultati sono stati registrati in soggetti sovrappeso che assumevano 292 mg di esperidina per 4 settimane (20).

Una spiegazione possibile di tale discrepanza, secondo alcuni Autori, potrebbe essere legata all'alta variabilità inter-individuale dei parametri farmacocinetici; tuttavia i risultati degli studi preclinici appaiono più chiari ed incoraggianti, perciò ulteriori studi dovrebbero essere eseguiti per chiarire i risultati dell'uomo.

La *Tabella 1* riassume i principali studi clinici riportati sopra.

## **Meccanismi d'azione**

### *Azione antiossidante-antinfiammatoria*

Lo stress ossidativo e l'infiammazione sono processi patologici che contribuiscono all'insorgenza e alla progressione dei processi aterosclerotici. Nei soggetti sani i flavanoni presenti nel genere *Citrus* non dimostrano signifi-

cativi effetti antiossidanti, suggerendo che in condizioni normali il loro potere antiossidante è piuttosto trascurabile; invece in soggetti ipercolesterolemici, Jung e colleghi dimostrano che naringina, somministrata per 8 settimane alla dose di 400 mg, incrementa in modo significativo i livelli di SOD e catalasi (15). Questo risultato suggerisce che i flavanoni presenti nel genere *Citrus* potrebbero avere un impatto importante nel migliorare le difese endogene nei soggetti con dislipidemie.

Inoltre 500 mg di esperidina partecipano alla riduzione dei valori plasmatici dei fattori infiammatori e all'espressione genica delle proteine coinvolte nei processi di proliferazione cellulare, chemotassi e adesione piastrinica (11). Un recentissimo studio *in vitro* su cellule endoteliali umane dimostra che esperetina, ma anche i suoi 2 principali metaboliti, inibiscono la migrazione cellulare indotta dal fattore infiammatorio TNF- $\alpha$  (21).

### *Azione vasodilatatoria*

Sono state ampiamente dimostrate le proprietà vasoattive dei due flavonoidi più abbondanti nel genere *Citrus*, naringina ed esperetina; in particolare Rizza e colleghi hanno provato che esperetina produce vasodilatazione attraverso l'attivazione della biosintesi di NO endoteliale e un suo derivato glucosil-esperidina somministrato per 8 settimane a ratti spontaneamente ipertesi è stato capace di ridurre i parametri pressori del 3%, oltre che migliorare la risposta endoteliale (11, 22-24). Inoltre, su arterie coronariche isolate da cuori di roditori, gli effetti vasoattivi di esperetina erano legati ad una inibizione delle correnti mediate dai canali al calcio voltaggio operati e attivazione delle correnti potassiche (25). Per quel che riguar-

Tabella 1 - Studi clinici riportanti gli effetti cardiovascolari dei frutti del genere *Citrus* o dei loro flavonoidi

Tipologia dello studio	Soggetti	Intervento dietetico	Effetto clinico rilevato	Referenza bibliografica
Studio epidemiologico Nurses's Healthy Study	70000 donne	Intake flavonoidi (>63 mg/die)	Riduzione del rischio di ischemia cerebrale	7
Studio prospettico	10000 soggetti	Intake di flavanoni (4,7-26,8 mg aglicone/die)	Riduzione del 20% dell'incidenza di patologie cerebrovascolari	8
Meta-analisi di 3 trials clinici		naringenina	Riduzione dei parametri pressori	9
Trial clinico di 4 settimane	12 soggetti	esperidina (292 mg, corrispondente ai livelli presenti in 500 ml di succo di arancia)	Riduzione dei parametri pressori (4mmHg)	10
Trial clinico controllato di 3 settimane	Pazienti con sindrome metabolica	Esperidina (500 mg/die)	Riduzione dell'espressione di sE-selectina, riduzione dei livelli di colesterolo e ApoB	11
Trial clinico per 2 mesi	30 soggetti sani + 30 soggetti ipercolesterolemici	Naringina (400 mg/die)	Riduzione dei livelli di LDL e colesterolo e incremento dei livelli di HDL	15
Trial clinico di 6 mesi	53 soggetti con sindrome metabolica	Assunzione di succo di frutta (costituito per il 95% da <i>Citrus</i> flavonoidi)	Nessuna variazione del quadro glucidico, ma significativo miglioramento del quadro lipidico	16
Tattamento di 4 settimane	25 volontari con ipercolesterolemia	Assunzione di 200 ml di succo d'arancia bionda 3 volte/die	Riduzione dei livelli di ApoA	17
Tattamento di sei mesi	80 pazienti con moderata ipercolesterolemia	Assunzione di Bergavit (estratto di bergamotto) (150 mg/die di flavonoidi)	Miglioramento del quadro lipidico e abbassamento dei livelli di colesterolo	18
Tattamento per 4 settimane	204 pazienti sani	Assunzione di naringina plus esperidina (500 mg e 800 mg/die rispettivamente)	nessun miglioramento del quadro lipidico	19
Trial di 4 settimane	24 soggetti sovrappeso	Esperidina (292 mg/die)	nessun miglioramento del quadro lipidico	20

da naringenina è stato dimostrato che le proprietà vasorilascianti, osservate su anelli di aorta di ratto, richiedono l'attivazione di un tipo di canale del potassio calcio-attivato (BKCa) localizzato sulla membrana sarcolemmatica (26,27).

Un unico lavoro dimostra infine le proprietà vasorilascianti del flavanone eriodictiolo, caratteristico del limone; tuttavia gli Autori riportano una riduzione concentrazione-dipendente del tono vascolare in anelli di aorta di ratto pre-contratti, senza riuscire a dimostrare pienamente il meccanismo d'azione; più di recente

le proprietà protettive sono state dimostrate *in vitro* su cellule endoteliali (28-29).

#### Azione anti-ischemia

Di recente è stato osservato in modelli *ex-vivo* ed *in vivo* di ischemia-riperfusion miocardica che naringenina è in grado di conferire cardioprotezione, e che tale azione è mediata dall'attivazione dei canali BKCa espressi a livello della membrana mitocondriale, strutturalmente molto simili a quelli coinvolti nella vasodilatazione. Su roditori è stato dimostrato che l'apertura di detti canali, mediata da naringenina, è in grado di innescare a livello

del mitocondrio una riduzione dell'*uptake* di calcio, che insieme ad una modesta depolarizzazione mitocondriale, riduce la probabilità di formazione del poro di transizione di permeabilità mitocondriale e quindi la morte apoptotica delle cellule miocardiche (30-32). D'altra parte anche esperetina può svolgere effetti anti-apoptotici su cardiomioblasti attraverso il *pathway* mitocondriale di JNK/Bax (33).

#### Tolleranza al glucosio

Un supplemento della dieta con flavanoni (per 4 o più settimane) somministrato ad animali diabetici e animali con insulino-re-

sistenza, indotta attraverso una dieta ricca di grassi, riduceva la glicemia e l'insulinemia, migliorando la tolleranza al glucosio. In effetti proprietà "insulino-like" sono già state dimostrate per naringina in studi *in vitro*, che si aggiungono all'evidente capacità di naringina ed esperidina di indurre l'espressione dei recettori PPAR-gamma e l'attività di glucocinasi, enzima chiave nell'utilizzazione di glucosio (34-36). In questo contesto è doveroso citare anche uno studio condotto sul flavone poli-metossilato presente nel mandarino, la tangeretina. Su ratti resi diabetici la somministrazione di tangeretina riduceva in modo marcato i livelli plasmatici di glucosio e incrementava al contempo la secrezione di insulina, migliorando nel complesso il metabolismo del glucosio (37).

## Profilo farmacocinetico dei flavanoni presenti nel genere *Citrus*

Una grande problematica relativa ai *Citrus* flavonoidi è la scarsa biodisponibilità, che limita di fatto la loro efficacia al punto tale da dover ricorrere spesso a succhi di frutta arricchiti con i *Citrus* flavanoni, o loro analoghi, enzimaticamente più stabili. Mediamente il picco di concentrazione plasmatica si raggiunge 6 ore dopo l'ingestione e le concentrazioni plasmatiche rilevate oscillano nell'ordine del micromolare, con differenze relative ai diversi tipi di flavonoidi. Il metabolismo interessa i processi di coniugazione sia a livello intestinale che epatico, portando sostanzialmente a due tipi di metaboliti, glucuronone e solfato-coniugati.

La via di escrezione è principalmente quella urinaria con il picco tra 6 e 12 ore dopo l'ingestione. Altro fattore che potrebbe influenzare la biodisponibilità dei flavonoidi del genere *Citrus* è la loro solubilità nel succo di frutta, quindi diventa significativo anche il modo con il quale viene ottenuto il succo di frutta, spremuto artigianale piuttosto che commerciale. Difatti un'attenta valutazione analitica rileva che sebbene la composizione qualitativa non vari in modo significativo, dal punto di vista quantitativo le due preparazioni non sono affatto identiche (38). Tuttavia si ritiene che il fattore matrice non sia il più critico; infatti la più alta variabilità è legata alle differenze inter-individuali nella composizione della microflora batterica risiedente nel colon. In effetti il consumo di succhi e frutta garantisce l' intake di flavonoidi nella loro forma glicosilata, ma questi per essere assorbiti hanno bisogno di una bioattivazione, consistente nella idrolisi della porzione zuccherina per liberare la porzione agliconica responsabile degli effetti farmacologici (39).

## Conclusioni

In conclusione i meccanismi attraverso i quali i flavanoni presenti nel genere *Citrus* svolgono i loro effetti benefici sul sistema cardiovascolare appaiono molteplici e per certi aspetti ancora poco chiari; tuttavia nel complesso gli studi clinici e pre-clinici disponibili dimostrano senza dubbio che il loro abituale consumo può ridurre significativamente i fattori di rischio cardiovascolari. Questa evidenza conferisce ai frutti *Citrus* un notevole valore nutraceutico vista l'elevata diffusione delle patologie cardiovascolari nei Paesi industrializzati e il grande impatto che queste ma-

lattie hanno sulla qualità della vita del paziente.

Come evidenziato recentemente dall'AIFA, i farmaci cardiovascolari si confermano la categoria a maggior consumo; risulta quindi evidente come, a fronte di un ampio e variegato armamentario farmacologico, le patologie del sistema cardiovascolare rimangono l'ambito terapeutico e sanitario che riguarda il maggior numero di pazienti in Italia e nel mondo. Tale numero è inoltre destinato a salire, soprattutto nei Paesi occidentali non solo a causa dell'obesità, legata al consumo eccessivo di cibo, ma anche a causa del progressivo invecchiamento della popolazione. Quindi l'approccio nutraceutico che si può avere con l'uso dei prodotti del genere *Citrus*, volto a prevenire e a curare in maniera pleiotropica i vari effetti della patologia cardiovascolare, può risultare di notevole aiuto.

## Bibliografia

- 1 Peterson JJ, Dwyer JT, Beecher GR, Bhagwat SA, Gabhardt SE, Haytowitz DB, Holden JM (2006) Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *J Food Compos Anal* 19 566-573
- 2 Chanet A, Milenkovic D, Manach C, Mazur A, Morand C (2012) *Citrus* flavanones: what is their role in cardiovascular protection? *J Agric Food Chem* 60(36) 8809-8822
- 3 Dauchet L, Amouyel P, Dallongeville J (2005) Fruit and vegetable consumption and risk of stroke: a meta-analysis of cohort studies. *Neurology* 65(8) 1193-1197
- 4 Dauchet L, Amouyel P, Hercberg S, Dallongeville J (2006) Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies. *J Nutr* 136(10) 2588-2593
- 5 He FJ, Nowson CA, MacGregor GA (2006) Fruit and vegetable consumption and stroke: meta-analysis of cohort studies. *Lancet* 367(9507) 320-326
- 6 He FJ, Nowson CA, Lucas M, MacGregor GA (2007) Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *J Hum Hypertens* 21(9) 717-728

- 7 Cassidy A, Rimm EB, O'Reilly EJ, Logroscino G, Kay C, Chiuev SE, Rexrode KM (2012) Dietary flavonoids and risk of stroke in women. *Stroke* 43(4) 946-951
- 8 Yamada T, Hayasaka S, Shibata Y, Ojima T, Saegusa T, Gotoh T, Ishikawa S, Nakamura Y, Kayaba K, Jichi Medical School Cohort Study Group. (2011) Frequency of *Citrus* fruit intake is associated with the incidence of cardiovascular disease: the Jichi Medical School cohort study. *J Epidemiol* 21(3) 169-175
- 9 Onakpoya I, O'Sullivan J, Heneghan C, Thompson M (2015) The Effect of Grapefruits (*Citrus paradisi*) on Body Weight and Cardiovascular Risk Factors: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Clinical Trials. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Epub ahead of print]
- 10 Reshef N, Hayari Y, Goren C, Boaz M, Madar Z, Knobler H (2005) Antihypertensive effect of sweetie fruit in patients with stage I hypertension. *Am J Hypertens* 18(10) 1360-1363
- 11 Rizza S, Muniyappa R, Iantorno M, Kim JA, Chen H, Pullikotil P, Senese N, Tesauro M, Lauro D, Cardillo C, Quon MJ (2011) *Citrus* polyphenol hesperidin stimulates production of nitric oxide in endothelial cells while improving endothelial function and reducing inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 96(5) E782-E792
- 12 Choe SC, Kim HS, Jeong TS, Bok SH, Park YB (2001) Naringin has an antiatherogenic effect with the inhibition of intercellular adhesion molecule-1 in hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol* 38(6) 947-955
- 13 Lee CH, Jeong TS, Choi YK, Hyun BH, Oh GT, Kim EH, Kim JR, Han JI, Bok SH (2001) Anti-atherogenic effect of *Citrus* flavonoids, naringin and naringenin, associated with hepatic ACAT and aortic VCAM-1 and MCP-1 in high cholesterol-fed rabbits. *Biochem Biophys Res Commun* 284(3) 681-688
- 14 Chanet A, Milenkovic D, Deval C, Potier M, Constans J, Mazur A, Bennetau-Pelissero C, Morand C, Bérard AM (2012) Naringin, the major grapefruit flavonoid, specifically affects atherosclerosis development in diet-induced hypercholesterolemia in mice. *J Nutr Biochem* 23(5) 469-477
- 15 Jung UJ, Kim HJ, Lee JS, Lee MK, Kim HO, Park EJ, Kim HK, Jeong TS, Choi MS (2003) Naringin supplementation lowers plasma lipids and enhances erythrocyte antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic subjects. *Clin Nutr* 22(6) 561-568
- 16 Mulero J, Bernabé J, Cerdá B, García-Viguera C, Moreno DA, Albaladejo MD, Avilés F, Parra S, Abellán J, Zafrilla P (2012) Variations on cardiovascular risk factors in metabolic syndrome after consume of a *Citrus*-based juice. *Clin Nutr* 31(3) 372-377
- 17 Constans J, Bennetau-Pelissero C, Martin JF, Rock E, Mazur A, Bedel A, Morand C, Bérard AM (2015) Marked antioxidant effect of orange juice intake and its phytochemicals in a preliminary randomized cross-over trial on mild hypercholesterolemic men. *Clin Nutr* 34(6) 1093-1100
- 18 Toth PP, Patti AM, Nikolic D, Giglio RV, Castellino G, Bianucci T, Geraci F, David S, Montalto G, Rizvi A, Rizzo M (2016) Bergamot Reduces Plasma Lipids, Atherogenic Small Dense LDL, and Subclinical Atherosclerosis in Subjects with Moderate Hypercholesterolemia: A 6 Months Prospective Study *Front Pharmacol* 6(6) 299
- 19 Demonty I, Lin Y, Zebregs YE, Vermeer MA, van der Knaap HC, Jäkel M, Trautwein EA (2010) The *Citrus* flavonoids hesperidin and naringin do not affect serum cholesterol in moderately hypercholesterolemic men and women. *J Nutr* 140(9) 1615-1620
- 20 Morand C, Dubray C, Milenkovic D, Lioger D, Martin JF, Scalbert A, Mazur A (2011) Hesperidin contributes to the vascular protective effects of orange juice: a randomized crossover study in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 93(1) 73-80
- 21 Giménez-Bastida JA, González-Sarriás A, Vallejo F, Espín JC, Tomás-Barberán FA (2015) Hesperetin and its sulfate and glucuronide metabolites inhibit TNF- $\alpha$  induced human aortic endothelial cell migration and decrease plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels. *Food Funct* [Epub ahead of print]
- 22 Yamamoto M, Suzuki A, Hase T (2008) Short-term effects of glucosyl hesperidin and hesperetin on blood pressure and vascular endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 54(1) 95-98
- 23 Yamamoto M, Jokura H, Suzuki A, Hase T, Shimotoyodome A (2013) Effects of continuous ingestion of hesperidin and glucosyl hesperidin on vascular gene expression in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 59(5) 470-473
- 24 Yamada M, Tanabe F, Arai N, Mitsuzumi H, Miwa Y, Kubota M, Chaen H, Kibata M (2006) Bioavailability of glucosyl hesperidin in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 70(6) 1386-1394
- 25 Liu Y, Niu L, Cui L, Hou X, Li J, Zhang X, Zhang M (2014) Hesperetin inhibits rat coronary constriction by inhibiting Ca<sup>2+</sup> influx and enhancing voltage-gated K<sup>+</sup> channel currents of the myocytes. *Eur J Pharmacol* 735 193-201
- 26 Saponara S, Testai L, Iozzi D, Martinotti E, Martelli A, Chericoni S, Sgaragli G, Fusi F, Calderone V (2006) (+/-)-Naringenin as large conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> (BKCa) channel opener in vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 149(8) 1013-1021
- 27 Calderone V, Chericoni S, Martinelli C, Testai L, Nardi A, Morelli I, Breschi MC, Martinotti E (2004) Vasorelaxing effects of flavonoids: investigation on the possible involvement of potassium channels. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 370(4) 290-298
- 28 Ramón Sánchez de Rojas V, Somoza B, Ortega T, Villar AM, Tejerina T (1999) Vasodilatory effect in rat aorta of eriodictyol obtained from *Satureja obovata*. *Planta Med* 65(3) 234-238
- 29 Lee SE, Yang H, Son GW, Park HR, Park CS, Jin YH, Park YS (2015) Eriodictyol Protects Endothelial Cells against Oxidative Stress-Induced Cell Death through Modulating ERK/Nrf2/ARE-Dependent Heme Oxygenase-1 Expression. *Int J Mol Sci* 16(7) 14526-14539
- 30 Testai L, Martelli A, Cristofaro M, Breschi MC, Calderone V (2013) Cardioprotective effects of different flavonoids against myocardial ischemia/reperfusion injury in Langendorff-perfused rat hearts. *J Pharm Pharmacol* 65(5) 750-756
- 31 Testai L, Martelli A, Marino A, D'Antongiovanni V, Ciregia F, Giusti L, Lucacchini A, Chericoni S, Breschi MC, Calderone V (2013) The activation of mitochondrial BK potassium channels contributes to the protective effects of naringenin against myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biochem Pharmacol* 85(11) 1634-1643
- 32 Testai L (2015) Flavonoids and mitochondrial pharmacology: A new paradigm for cardioprotection. *Life Sci* 135 68-76
- 33 Yang Z, Liu Y, Deng W, Dai J, Li F, Yuan Y, Wu Q, Zhou H, Bian Z, Tang Q (2014) Hesperetin attenuates mitochondria-dependent apoptosis in lipopolysaccharide-induced H9C2 cardiomyocytes. *Mol Med Rep* 9(5) 1941-1946
- 34 Sharma AK, Bharti S, Ojha S, Bhatia J, Kumar N, Ray R, Kumari S, Arya DS (2011) Up-regulation of PPAR $\gamma$ , heat shock protein-27 and -72 by naringin attenuates insulin resistance,  $\beta$ -cell dysfunction, hepatic steatosis and kidney damage in a rat model of type 2 diabetes. *Br J Nutr* 106(11) 1713-1723
- 35 Cho KW, Kim YO, Andrade JE, Burgess JR, Kim YC (2011) Dietary naringenin increases hepatic peroxisome proliferators-activated receptor  $\alpha$  protein expression and decreases plasma triglyceride and adiposity in rats. *Eur J Nutr* 50(2) 81-88
- 36 Jung UJ, Lee MK, Park YB, Kang MA, Choi MS (2006) Effect of *Citrus* flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *Int J Biochem Cell Biol* 38(7) 1134-1145
- 37 Sundaram R, Shanthi P, Sachdanandam P (2014) Effect of tangeretin, a polymethoxylated flavone on glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 21(6) 793-799
- 38 Silveira JQ, Cesar TB, Manthey JA, Baldwin EA, Bai J, Raithore S (2014) Pharmacokinetics of flavanone glycosides after ingestion of single doses of fresh-squeezed orange juice versus commercially processed orange juice in healthy humans. *J Agric Food Chem* 62(52) 12576-12584
- 39 Urpi-Sarda M, Rothwell J, Morand C, Manach C (2012) Bioavailability of flavanones: In Flavonoids and Related Compounds: Bioavailability and Function; Spencer, J. Crozier A. Eds CRC Press Boca Raton, FL; 1-65