Jundishapur
Scientific Medical Journal
Vol 25, No 1, 2026

Research Paper

Investigating the Antioxidant Effects of Hesperidin on Liver Tissue in Mice with Acute Malathion Toxicity

Mohammad Amin Abdolahi Ziaaldini [1], Nadia Yousefi [1], Zabihullah Mohaqiq[1], Hamed Shoorei [2*]

1.Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
2.Assistant Professor of Anatomical Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Abdolahi Ziaaldini MA, Yousefi N, Mohaqiq Zu, Shoorei H. [Investigation of the Antioxidant Effects of Hesperidin on Liver Tissue in Mice with Acute Malathion Toxicity (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2026; 25(1): 1-11.
https://doi.org/10.22118/jsmj.2026.554165.4048

ABSTRACT

Background and Objectives Malathion is an organophosphate compound that can cause severe damage to organs such as the liver. It exerts its toxic effects through inhibition of cholinesterase and induction of oxidative stress. Hesperidin, a flavonoid with antioxidant and anti-inflammatory properties, may have a protective role against this damage. The aim of this study was to investigate the protective effect of hesperidin against acute malathion-induced liver injury in female Syrian mice.

Subjects and Methods In this experimental study, 32 female Syrian mice were randomly divided into four groups: negative control, malathion, hesperidin, and treatment (malathion + hesperidin). Malathion (3 mg/kg) and hesperidin (20 mg/kg) were administered intraperitoneally for 35 consecutive days. At the end of the treatment period, following anesthesia, cardiac blood sampling and liver tissue collection were performed. Data were analyzed using SPSS version 24, with statistical significance set at ($p<0.05$).

Results In the malathion group, histopathological alterations in liver tissue were observed, and serum levels of ALT, AST, ALP, and both total and direct bilirubin were significantly increased ($P<0.05$). In the treatment group, these markers were significantly reduced, and histological improvement of liver tissue was evident ($P<0.05$). Total antioxidant capacity (TAC) decreased in the malathion group while it increased in the hesperidin and treatment groups ($P<0.05$). Additionally, malondialdehyde (MDA) levels were significantly elevated in the malathion group but significantly reduced in the malathion+hesperidin group ($P<0.05$).

Conclusion Malathion induced histopathological changes and enzymatic disturbances in the liver, whereas hesperidin effectively mitigated these effects. Therefore, hesperidin may serve as a protective agent against malathion-induced hepatotoxicity.

Keywords Malathion, Hesperidin, Hepatic injury, Oxidative stress.

Received: 21 Oct 2025
Revised: 13 Dec 2025
Accepted: 17 Feb 2026

**** Corresponding Author:***
Hamed Shoorei
Address: Department of Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
Tel: +989357551569
E-Mail: h.shoorei@gmail.com

Extended Abstract

Introduction

Malathion (diethyl 2-[(dimethoxy phosphorothioyl) sulfanyl]butanedioate) is a synthetic organophosphorus pesticide and one of the most extensively used insecticides worldwide. Owing to its relatively low environmental persistence, exposure occurs predominantly through ingestion, inhalation, and dermal absorption (1). Malathion is well recognized as a neurotoxic agent, and prolonged exposure has been associated with genotoxicity, endocrine dysfunction, immunological disturbances, and hematological abnormalities, including reduced erythrocyte counts, with the severity of these adverse effects largely depending on the route, duration, and extent of exposure (2). Consequently, neurotoxicity represents the predominant manifestation of organophosphate poisoning, whereas hepatotoxicity is considered one of its major systemic complications (2,3). As the primary organ responsible for xenobiotic metabolism and detoxification, the liver is particularly vulnerable to malathion-induced injury, and impairment of hepatic function may lead to profound metabolic and physiological disturbances (3). The International Agency for Research on Cancer (IARC) has classified malathion as a Group 2A (probably carcinogenic to humans) compound, underscoring the potential health risks associated with long-term exposure (1).

Although malathion exhibits relatively low intrinsic toxicity, it undergoes hepatic bioactivation by cytochrome P450 (CYP450) enzymes to form malaoxon, an active metabolite that is approximately 61-fold more toxic than the parent compound (4). The toxicological fate of malathion is primarily determined by two competing metabolic pathways. The first involves detoxification by carboxylesterases, which hydrolyze malathion into less toxic metabolites. The second consists of CYP450-mediated oxidative desulfuration, resulting in the formation of malaoxon, the principal mediator of malathion-induced toxicity. At lower exposure levels, CYP1A2 and, to a lesser extent, CYP2B6 predominantly catalyze malaoxon formation, whereas CYP3A4 and CYP2B6 become increasingly involved under higher exposure conditions, thereby enhancing the bioactivation process. In addition, impurities such as isomalathion can inhibit carboxylesterase activity, shifting malathion metabolism toward bioactivation and substantially increasing its toxicity. Consequently, elevated CYP1A2 and CYP2B6 activity, whether attributable to genetic polymorphisms or environmental factors such as cigarette smoking, has been proposed as a determinant of increased individual susceptibility to organophosphorus pesticides, including malathion (5).

Methods

Thirty-two adult female BALB/c mice, weighing approximately 20 g, were used in this experimental study. The animals were randomly allocated to four experimental groups (n = 8 per group):

1) Control group: Mice received physiological saline containing 1% dimethyl sulfoxide (DMSO).

2) Malathion group: Mice received malathion (3 mg/kg/day, intraperitoneally) for 35 consecutive days (11).

3) Malathion + Hesperidin group: Mice received malathion (3 mg/kg/day) and hesperidin (20 mg/kg/day) via intraperitoneal injection for 35 consecutive days.

4) Hesperidin group: Mice received hesperidin (20 mg/kg/day, intraperitoneally) for 35 consecutive days (12).

All treatments were administered via intraperitoneal (IP) injection. At the end of the 35-day treatment period, the animals were anesthetized with ketamine (50 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg) (10). Blood samples were collected by cardiac puncture, after which the liver was immediately excised through a midline abdominal incision. Liver specimens designated for histopathological analysis were fixed in 10% neutral-buffered formalin. Blood samples were centrifuged at 3,000 rpm for 15 min to separate the serum, which was subsequently stored at −20°C until biochemical analyses were performed.

Hepatic function was evaluated by measuring serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), and total and direct bilirubin concentrations using commercially available diagnostic kits (Bionic Co., Iran) according to the manufacturer's instructions. Hepatic oxidative status was assessed by determining malondialdehyde (MDA) levels using the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay and total antioxidant capacity (TAC) using the ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay. For histopathological evaluation, liver tissues were processed according to standard paraffin-embedding procedures, sectioned, stained with hematoxylin and eosin (H&E), and independently examined by an experienced pathologist who was blinded to the experimental groups.

The extent of hepatic necrosis was evaluated using a semiquantitative injury scoring system ranging from 0 to 4, based on the severity of necrotic lesions within the hepatic parenchyma, as previously described (13). Each tissue section was independently assessed by two pathologists who were blinded to the experimental group allocation. The scoring criteria were defined as follows: Grade 0: absence of pathological alterations; Grade 1: hepatocellular degeneration with only a few scattered foci of necrosis; Grade 2: a small area of mild centrilobular necrosis surrounding the central vein; Grade 3: more extensive centrilobular necrosis than that observed in Grade 2; and Grade 4: severe centrilobular necrosis exceeding that observed in Grade 3.

All experimental procedures were approved by the Institutional Animal Ethics Committee of Birjand University of Medical Sciences (Approval No. IR.BUMS.REC.1401.104). All animal experiments were conducted in accordance with institutional ethical regulations and internationally accepted guidelines for the care and use of laboratory animals. Furthermore, the study was designed, conducted, and reported in compliance with the ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments) guidelines to ensure the highest standards of ethical conduct and transparency in animal research.

Results

Serum biochemical analysis revealed that ALT, AST, and ALP levels were significantly elevated in the malathion-treated

group compared with the control group ($P < 0.05$). In contrast, co-administration of hesperidin significantly reduced the serum levels of these liver enzymes relative to the malathion group ($P < 0.05$). Similarly, both total and direct bilirubin concentrations were significantly higher in the malathion group than in the control and hesperidin groups ($P < 0.05$), whereas treatment with hesperidin significantly decreased these parameters compared with the malathion group ($P < 0.05$). With respect to hepatic oxidative stress markers, total antioxidant capacity (TAC) was significantly reduced in the malathion group compared with the control group ($P < 0.05$). Co-treatment with hesperidin significantly restored TAC levels relative to the malathion group ($P<0.05$). Conversely, hepatic malondialdehyde (MDA) levels were significantly increased following malathion administration compared with the control group ($P<0.05$), whereas hesperidin treatment significantly decreased MDA concentrations compared with the malathion group ($P < 0.05$).

Conclusion

The findings of the present study demonstrate that malathion-induced oxidative stress plays a pivotal role in the development of hepatic injury. Hesperidin effectively mitigated malathion-induced hepatotoxicity by suppressing oxidative stress, preventing excessive free radical generation, improving liver function biomarkers, and preserving hepatic histological architecture. To the best of our knowledge, this is the first study to demonstrate the hepatoprotective effects of hesperidin against malathion-induced liver injury. These findings highlight the therapeutic potential of hesperidin as a natural hepatoprotective agent for reducing organophosphate pesticide-induced hepatotoxicity.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

This study was approved by the Ethics Committee of Birjand University of Medical Sciences (Ethics Code: IR.BUMS.REC.1401.104) and conducted in compliance with laboratory animal ethical principles and ARRIVE guidelines.

Funding

This research was conducted as part of the general medical doctoral thesis of Dr. Nadia Yousefi. The thesis was financially supported by Birjand University of Medical Sciences under project code 456773.

Author's contributions

Mohammad Amin Abdolahi Ziaaldini: Performed the laboratory experiments, wrote the manuscript, and revised the manuscript. Nadia Yousefi: Conducted the thesis project and prepared the initial draft of the manuscript. Zabihullah Mohaqiq: Contributed to the study design and performed the statistical analyses. Hamed Shoorei: Conceived and designed the study, supervised its implementation, and performed the histological evaluation of liver tissue. All authors reviewed and approved the final version of the manuscript and accepted responsibility for its content.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors sincerely thank Dr. Hamed Shoorei and all colleagues involved in this study for their valuable guidance, support, and contributions throughout the research process.

مقالهٔ پژوهشی

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدان هسپریدین بر بافت کبد موش‌های سوری دچار مسمومیت حاد با مالاتیون

محمدامین عبدالهی ضیاءالدینی[۱]، نادیا یوسفی[۱]، ذبیح‌الله محقق[۱]، حامد شورئی[۲*]

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بیرجند، بیرجند، ایران.
۲. استادیار گروه علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Abdolahi Ziaaldini MA, Yousefi N, Mohaqiq Zu, Shoorei H. [Investigation of the Antioxidant Effects of Hesperidin on Liver Tissue in Mice with Acute Malathion Toxicity (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2026; 25(1): 1-11.

https://doi.org/10.22118/jsmj.2026.554165.4048

چکیده

زمینه و هدف: مالاتیون، به‌عنوان یک ترکیب ارگانوفسفره، می‌تواند باعث آسیب شدید به اندام‌هایی مانند کبد شود. این ترکیب ازطریق مهار کولین‌استراز و القای استرس اکسیداتیو اثرات سمی خود را اعمال می‌کند. هسپریدین، یک فلاونوئید با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، ممکن است نقش محافظتی دربرابر این آسیب‌ها داشته باشد. هدف از این پژوهش بررسی اثر حفاظتی هسپریدین بر آسیب حاد کبدی ناشی از مالاتیون در موش‌های سوری ماده بود.

روش بررسی: در این مطالعهٔ تجربی، ۳۲ سر موش سوری ماده به‌طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند: کنترل منفی، مالاتیون، هسپریدین و درمان (مالاتیون + هسپریدین). مالاتیون (۳ mg/kg) و هسپریدین (۲۰ mg/kg) به‌صورت داخل صفاقی به‌مدت ۳۵ روز متوالی تجویز شدند. در پایان دوره، پس از بیهوشی، خون‌گیری قلبی و برداشت کبد انجام شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۴ و در سطح معنی‌داری کمتر از ۰,۰۵ تحلیل شدند.

یافته‌ها: در گروه مالاتیون، تغییرات غیرطبیعی در بافت کبد مشاهده شد و سطوح سرمی آنزیم‌های ALT، AST، ALP، بیلی‌روبین تام و مستقیم به‌طور معناداری افزایش یافت. در گروه درمان، این شاخص‌ها به‌طور معناداری کاهش یافتند و بهبود هیستولوژیک بافت کبد مشاهده شد. ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی (TAC) در گروه مالاتیون کاهش و در گروه‌های هسپریدین و درمان افزایش یافت. همچنین سطح مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در گروه مالاتیون به‌طور معناداری افزایش و در گروه درمان با هسپریدین کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: مالاتیون موجب تغییرات هیستوپاتولوژیک و اختلالات آنزیمی کبد شد، درحالی‌که هسپریدین این اثرات را به‌طور مؤثر کاهش داد. بنابراین، هسپریدین می‌تواند به‌عنوان یک عامل حفاظتی دربرابر سمیت کبدی ناشی از مالاتیون مطرح شود.

کلیدواژه‌ها: مالاتیون، هسپریدین، آسیب کبدی، استرس اکسیداتیو.

تاریخ دریافت: ۲۹ مهر ۱۴۰۴
دریافت اصلاحات: ۲۲ آذر ۱۴۰۴
تاریخ پذیرش: ۲۸ بهمن ۱۴۰۴

* نویسنده مسئول:
حامد شورئی
نشانی: گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.
تلفن: ۰۹۳۵۷۵۵۱۵۶۹
رایانامه: h.shoorei@gmail.com

مقدمه

مالاتیون (diethyl 2-[(dimethoxyphosphorothioyl) sulfanyl] butanedioate) یک ترکیب فسفرهٔ سنتتیک از خانوادهٔ ارگانوفسفره و از پرمصرف‌ترین و متنوع‌ترین آفت‌کش‌ها است که به‌دلیل پایداری کم در محیط، عمدتاً ازطریق دستگاه گوارش، سیستم تنفسی و تماس پوستی وارد بدن موجودات زنده می‌شود (۱). این ترکیب به‌عنوان یک نوروتوکسین شناخته می‌شود و مواجههٔ طولانی‌مدت با آن می‌تواند منجر به بروز سمیت ژنتیکی، اختلال در عملکرد غدد درون‌ریز، اختلالات ایمنی و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز شود؛ به‌طوری که شدت این اثرات وابسته به نوع و میزان تماس است (۲). بنابراین، شایع‌ترین نوع مسمومیت ناشی از ارگانوفسفره‌ها، ازجمله مالاتیون، مسمومیت نوروتوکسیک است که به‌صورت حاد یا مزمن بروز می‌یابد، درحالی‌که مسمومیت کبدی رتبه بعدی را دارد (۲, ۳).

کبد به‌دلیل برخورداری از ذخایر آنتی‌اکسیدانی و نقش کلیدی در فرایند سم‌زدایی، به‌طور ویژه دربرابر آسیب ناشی از این ترکیب حساس است و اختلال در عملکرد آن می‌تواند پیامدهای گسترده‌ای ایجاد کند (۳). علاوه‌براین، طبق طبقه‌بندی IARC، مالاتیون به‌عنوان یک عامل «احتمالاً سرطان‌زا» برای انسان معرفی شده است (۱).

مالاتیون به‌تنهایی دارای سمیت نسبتاً پایینی است، اما پس از ورود به بدن انسان و تبدیل آن توسط آنزیم‌های سیتوکروم P۴۵۰ به متابولیت فعال مالاکسون، میزان سمیت آن تا حدود ۶۱ برابر افزایش می‌یابد (۴). در بدن دو مسیر اصلی برای متابولیسم این ترکیب وجود دارد: مسیر نخست، سم‌زدایی ازطریق آنزیم کربوکسی‌استراز است که منجر به غیرفعال‌سازی و بی‌خطرشدن مالاتیون می‌شود؛ مسیر دوم، بیواکتیواسیون توسط آنزیم‌های سیتوکروم P۴۵۰ است که مسئول تولید مالاکسون و بروز اثرات سمی آن است.

در شرایط مواجهه با غلظت‌های پایین، آنزیم‌های CYP1A2 و تا حدی CYP2B6 نقش اصلی را در تبدیل مالاتیون به مالاکسون ایفا می‌کنند، درحالی‌که در مواجهه با غلظت‌های بالا، فعالیت آنزیم‌های CYP3A4 و CYP2B6 به‌طور چشمگیری افزایش یافته و فرایند بیواکتیواسیون تشدید می‌شود. علاوه‌براین، وجود ناخالصی‌هایی مانند ایزومالاتیون می‌تواند مسیر سم‌زدایی را مهار کرده و شدت سمیت را چندین برابر افزایش دهد. ازاین‌رو، سطوح بالاتر آنزیم‌های CYP1A2 و CYP2B6، که می‌تواند تحت تأثیر عوامل ژنتیکی یا مصرف دخانیات باشد، به‌عنوان شاخصی از حساسیت بیشتر افراد نسبت به آفت‌کش‌های ارگانوفسفره، ازجمله مالاتیون، مطرح می‌شود (۵).

ازنظر مکانیسمی، مالاتیون با مهار برگشت‌ناپذیر آنزیم کولین‌استراز موجب تجمع استیل‌کولین در سیناپس‌ها و در نتیجه افزایش فعالیت کولینرژیک در گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی می‌شود (۶). افزایش بیش‌ازحد استیل‌کولین علاوه‌بر ایجاد اختلالات عصبی می‌تواند منجر به آسیب غشاهای سلولی، تولید رادیکال‌های آزاد و اختلال در سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن شود (۲, ۴). یکی از عوامل اصلی در بروز این آسیب‌ها افزایش استرس اکسیداتیو و تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است؛ گونه‌هایی مانند سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (-OH) که در اندام‌های درگیر تجمع یافته و سبب تشدید فرایندهای تخریبی می‌شوند (۴).

هسپریدین یک فلاونوئید گلیکوزیدی از گروه فلاوانون‌ها است که به‌طور فراوان در میوه‌های مرکبات به‌ویژه پرتقال، لیمو و گریپ‌فروت یافت می‌شود (۷). این ترکیب به‌دلیل ساختار فنولی خود، دارای فعالیت‌های بیولوژیک گسترده‌ای ازجمله خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضد سرطانی و محافظت‌کننده سلولی است. هسپریدین با خنثی‌سازی مستقیم رادیکال‌های آزاد و همچنین تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن، ازطریق افزایش فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز، نقش مؤثری در کاهش استرس اکسیداتیو ایفا می‌کند (۷). این ماده علاوه‌بر مهار تولید گونه‌های فعال اکسیژن، ازطریق تعدیل مسیرهای التهابی وابسته به فاکتور هسته‌ای NF-κB موجب کاهش سیتوکین‌های التهابی مانند TNF-α، IL-1β و IL-6 شده و از آسیب‌های سلولی ناشی از التهاب و اکسیداسیون جلوگیری می‌کند (۸). ازسوی‌دیگر، هسپریدین با بهبود پایداری غشای سلولی، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی، حمایت از عملکرد DNA و تقویت جریان خون مویرگی، نقش محافظتی قابل‌توجهی در بافت‌های حیاتی ازجمله کبد دارد.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که این ترکیب قادر است سمیت ناشی از ترکیبات ارگانوفسفره را ازطریق کاهش تشکیل مالاکسون، تقویت مکانیسم‌های سم‌زدایی و محدودکردن آسیب‌های اکسیداتیو کاهش دهد (۹, ۱۰)؛ ازاین‌رو، هسپریدین به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدانی قدرتمند می‌تواند گزینه‌ای مؤثر برای کاهش آسیب‌های کبدی ناشی از مواجهه با مالاتیون محسوب شود.

بنابراین، هدف مطالعهٔ حاضر ارزیابی اثرات حفاظتی آنتی‌اکسیدان هسپریدین بر بافت کبد موش‌های سوری در شرایط مسمومیت حاد ناشی از مالاتیون بوده است.

روش بررسی

در این مطالعهٔ تجربی، تعداد ۳۲ سر موش مادهٔ نژاد سوری BALB/c بالغ با وزن تقریبی ۲۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه با ۸ سر موش در هر گروه تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل سالم: در این گروه موش‌ها محلول سالین و دی متیل سولفید (۰.۱٪) دریافت کردند.

۲- گروه کنترل مالاتیون: در این گروه موش‌ها روزانه به‌مدت ۳۵ روز مقدار ۳ mg/kg مالاتیون دریافت کردند (۱۱).

۳- گروه درمان (مالاتیون + هسپریدین): در این گروه موش‌ها روزانه

به‌مدت ۳۵ روز مقدار mg/kg ۳ مالاتیون و همچنین mg/kg ۲۰ هسپریدین دریافت کردند.

۴-گروه هسپریدین: در این گروه موش‌ها بصورت روزانه و به‌مدت ۳۵ روز مقدار mg/kg ۲۰ هسپریدین دریافت کردند (۱۲).

تمام تزریقات به‌صورت صفاقی (IP) انجام شد. پس از پایان دورهٔ ۳۵روزه، موش‌ها با کتامین (50 mg/kg)-زایلازین (10 mg/kg) بیهوش شدند (۱۰). نمونهٔ خون ازطریق پونکسیون قلبی جمع‌آوری شد و سپس با ایجاد برش میدلاین در جدار شکمی، کبد موش‌ها جدا شد. بخشی از بافت کبد برای بررسی‌های هیستوپاتولوژیک در محلول فرمالین ۱۰٪ نگهداری شد. سرم از خون نمونه‌ها با سانتریفوژ به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه جدا شد و در فریزر ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد تا زمان انجام ارزیابی پارامترها نگهداری گردید.

ارزیابی عملکرد کبد شامل اندازه‌گیری آنزیم‌های ALT، AST و ALP و همچنین بیلی‌روبین تام و مستقیم با استفاده از کیت شرکت بایونیک (ایران) انجام شد. همچنین، میزان پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی بافت کبد (TAC) به‌ترتیب با روش‌های TBARS و FRAP اندازه‌گیری شد.

نمونه‌های بافت کبد برای تهیهٔ لام به آزمایشگاه پاتولوژی ارسال شدند و پس از آماده‌سازی، توسط کارشناس و پاتولوژیست بررسی و گزارش شدند.

برای ارزیابی میزان نکروز پس از آسیب حاد کبدی، یک سیستم امتیازدهی آسیب (۴-۰ Grade) براساس شدت ضایعات نکروتیک در پارانشیم کبد انجام شد (۱۳). هر نمونه به‌صورت مستقل توسط دو آسیب‌شناس که از گروه‌های درمان و کنترل بی‌اطلاع بودند، امتیازدهی شد.

سیستم امتیازدهی به‌شرح زیر بود: گرید۰: بدون تغییرات پاتولوژیک؛ گرید ۱: حضور هپاتوسیت‌های دژنره‌شده با تنها نقاط کمی از نکروز؛ گرید ۲: ناحیهٔ کوچک از نکروز خفیف مرکزی لوبولی در اطراف سیاهرگ مرکزی؛ گرید ۳: ناحیه‌ای از نکروز خفیف مرکزی لوبولی شدیدتر از گرید قبلی؛ و گرید ۴: نکروز مرکزی لوبولی شدیدتر از گرید ۳.

تمامی مراحل پژوهش با کد اخلاق شمارهٔ IR.BUMS.REC.۱۴۰۱,۱۰۴ از کمیتهٔ اخلاق دانشگاه تأیید شد. کلیه آزمایشات و تیمار موش‌ها مطابق با قوانین اخلاق پزشکی و پروتکل‌های بین‌المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفت. علاوه‌براین، تمامی مراحل آزمایشات حیوانی مطابق دستورالعمل‌های بین‌المللی ARRIVE انجام شد تا رعایت کامل اصول اخلاقی در تحقیقات حیوانی تضمین شود.

داده‌ها پس از جمع‌آوری در نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۴ وارد شدند. برای بررسی نرمال‌بودن داده‌ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنوف استفاده شد. تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) به‌همراه آزمون توکی برای مقایسهٔ تفاوت‌ها بین گروه‌ها انجام شد. سطح معناداری برابر یا کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

یافته‌ها

ارزیابی بافت‌شناسی

تمامی تصاویر تغییرات بافت‌شناسی در کبد موش‌های هر گروه را نشان می‌دهند. در گروه کنترل (A) و گروه دریافت‌کنندهٔ هسپریدین (D)، هیستولوژی طبیعی کبد و هپاتوسیت‌ها با سیتوپلاسم و هسته‌های سالم و حفظ‌شده مشاهده گردید. در گروه مالاتیون (B) و گروه مالاتیون + هسپریدین (C)، تخریب رشته‌های کبدی، نکروز هپاتوسیتی، خونریزی مشاهده شد. این تغییرات در گروه مالاتیون + هسپریدین شدت کمتری نسبت به گروه مالاتیون داشت و نشان‌دهندهٔ بهبود نسبی نمای بافت‌شناسی کبد بود.

وزن بدن موش‌ها

در ابتدای مطالعه (روز صفر)، وزن موش‌ها در تمام گروه‌های مورد مطالعه یکسان بود؛ بااین‌حال، در روز انتهایی مطالعه (روز ۳۵)، وزن بدن موش‌ها در گروه کنترل مالاتیون به‌طور معناداری پایین‌تر از گروه کنترل سالم بود ($P<۰/۰۵$)، اما در گروه درمان (مالاتیون + هسپریدین) وزن موش‌ها افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل مالاتیون را نشان می‌دهد ($P<۰/۰۵$).

ارزیابی بیوشیمیایی

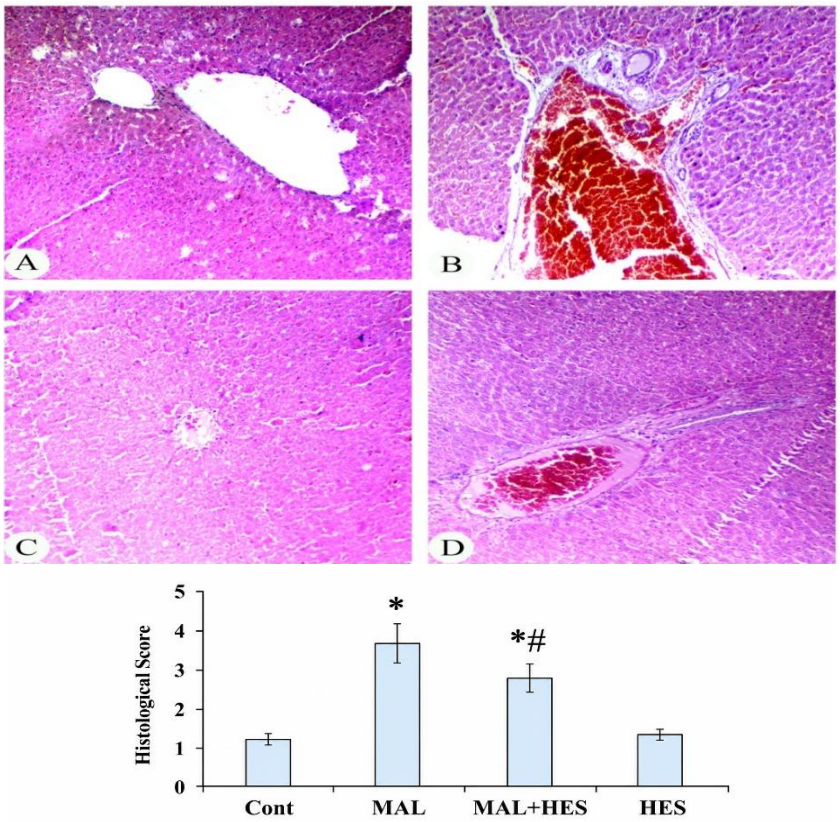
نتایج نشان داد سطح سرمی آنزیم‌های ALT، AST وALP در گروه کنترل مالاتیون به‌طور معناداری بالاتر از گروه کنترل سالم بود (($P<۰/۰۵$)، درحالی‌که در گروه درمان (مالاتیون + هسپریدین) این آنزیم‌ها کاهش معناداری نسبت به گروه کنترل مالاتیون داشتند ($P<۰/۰۵$). همچنین سطح بیلی‌روبین تام و مستقیم نیز در گروه کنترل مالاتیون افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل سالم و گروه کنترل هسپریدین نشان داد، اما در گروه درمان به‌طور معناداری کمتر از گروه کنترل مالاتیون بود ($P<۰/۰۵$).

ازنظر شاخص‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی بافتی، TAC در گروه کنترل مالاتیون کمتر از گروه سالم بود و در گروه درمان (شکل افزایش معناداری داشت ($P<۰/۰۵$)، درحالی‌که سطح بافتی MDA در گروه‌های کنترل مالاتیون نسبت به گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافته است ($P<۰/۰۵$). ازسوی‌دیگر، در گروه درمان (مالاتیون + هسپریدین)، سطح بافتی MDA نسبت به گروه کنترل مالاتیون کاهش معناداری داشت ($P<۰/۰۵$). به‌طور کلی، هسپریدین با کاهش آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین، و همچنین کاهش MDA و افزایش TAC، اثرات آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی قابل‌توجهی دربرابر آسیب‌های ناشی از مالاتیون نشان داد.

گروه‌های مورد مطالعه و پارامترها	گروه کنترل	گروه مالاتیون	گروه مالاتیون + هسپریدین	گروه هسپریدین
وزن موش‌ها (در ابتدای مطالعه)	۲۰/۸۴ ± ۱/۲	۲۱/۴۱ ± ۱/۴	۲۱/۲۲ ± ۱/۹	۲۱/۱۷ ± ۱/۸
وزن موش ها(در انتهای مطالعه)	۳۳/۵۷ ± ۱/۳	۱۹/۴۲ ± ۱/۵*	۲۷/۵۷ ± ۱/۷*#	۳۵/۲۵ ± ۱/۱
AST (mg/dl)	۱۱۲/۲۵ ± ۹/۳	۳۰۸/۳۸ ± ۴۱/۳*	۲۰۸/۹۳ ± ۷/۲*#	۱۰۹/۱۴ ± ۱۵/۱
ALT (mg/dl)	۳۷/۱۷ ± ۵/۱	۱۵۲/۱۱ ± ۱۳/۵*	۷۸/۱۴ ± ۵/۱*#	۳۴/۱۷ ± ۶/۸
ALP (mg/dl)	۲۴۵/۶۲ ± ۲۳/۵	۴۷۱/۶۷ ± ۲۵/۱*	۳۱۲/۱ ± ۱۰/۲*#	۲۳۸/۳۵ ± ۲۵/۳
بیلی روبین تام (mg/dl)	۰/۲۵ ± ۰/۰۵	۰/۶۶ ± ۰/۰۹*	۰/۴۴ ± ۰/۰۷*#	۰/۲۱ ± ۰/۰۶
بیلی روبین مستقیم (mg/dl)	۰/۲۱ ± ۰/۰۴	۰/۵۳ ± ۰/۱۱*	۰/۳۶ ± ۰/۰۸*#	۰/۱۸ ± ۰/۰۴
TAC (nmol/gp)	۴/۰۷ ± ۰/۳	۲/۱۸ ± ۰/۲*	۳/۰۵ ± ۰/۵*#	۴/۳۱ ± ۰/۶
MDA (nmol/gp)	۰/۸ ± ۰/۰۲	۲/۳۱ ± ۰/۳*	۱/۴ ± ۰/۲*#	۰/۷ ± ۰/۰۲

(*) تفاوت معنادار با گروه کنترل سالم

(#) تفاوت معنادار با گروه کنترل مالاتیون



شکل ۱. تصاویر که با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) است. تصاویر با بزرگ‌نمایی ۱۰× نشان داده شده‌اند. گروه کنترل (A)، گروه مالاتیون (B)، گروه مالاتیون به‌همراه هسپریدین (C) و گروه هسپریدین (D). نمودار پایین امتیازهای هیستولوژیک (Histological Scores) را در کبد موش‌های تیمارشده با نرمال سالین (کنترل)، مالاتیون (MAL)، مالاتیون+هسپریدین (MAL+HES) و هسپریدین (HES) نشان می‌دهد. (*) نشان‌دهندهٔ تفاوت معنادار با گروه کنترل است (p<۰،۰۵). (#) نشان دهنده تفاوت معنادار با گروه مالاتیون است (P<۰/۰۵).

بحث

کبد به‌عنوان اندام اصلی در بیوترانسفورماسیون و سم‌زدایی، نسبت به آسیب ناشی از ترکیبات سمی به‌ویژه ارگانوفسفره‌ها بسیار آسیب‌پذیر است. مالاتیون، یک آفت‌کش پرمصرف، ازطریق مهار کولین‌استراز و افزایش تجمع استیل‌کولین، استرس اکسیداتیو شدیدی ایجاد می‌کند و سبب تضعیف سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در کبد می‌شود (۴, ۵, ۱۴). این وضعیت به برهم‌خوردن هموستاز اکسیدان–آنتی‌اکسیدان و بروز آسیب‌های ساختاری و عملکردی در سلول‌های کبدی منجر می‌گردد (۱۴). در مقابل، شواهد نشان می‌دهد ترکیبات طبیعی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی، ازجمله هسپریدین، قادرند با کاهش استرس اکسیداتیو و تقویت دفاع آنتی‌اکسیدانی، اثرات هپاتوتوکسیک مالاتیون را تعدیل و تا حدی خنثی کنند.

آنزیم‌های کبدی و بیلی‌روبین از مهم‌ترین شاخص‌های زیستی برای ارزیابی هپاتوتوکسیسیته مالاتیون محسوب می‌شوند. افزایش ALT، AST و ALP نشان‌دهندهٔ اختلال عملکرد کبد و وقوع آسیب‌های سلولی است. این افزایش معمولاً به‌علت افزایش نفوذپذیری غشای پلاسمایی ناشی از نکروز، دژنراسیون و آسیب ساختاری هپاتوسیت‌ها رخ می‌دهد (۱۵). ازسوی‌دیگر، اختلال در عملکرد کبد به‌عنوان محل اصلی متابولیسم و پاکسازی بیلی‌روبین، منجر به افزایش بیلی‌روبین تام و مستقیم در سرم می‌شود (۱۵). آنزیم ALP در مسیرهای حیاتی ازجمله بیوسنتز، متابولیسم و دفع ترکیبات سمی نقش دارد؛ بنابراین اختلال در آن می‌تواند عملکرد سلولی و بافتی را مختل کند (۱۶). گزارش‌ها نشان می‌دهند افزایش سه آنزیم فوق می‌تواند درنتیجهٔ استرس اکسیداتیو شدید، تخریب غشای هپاتوسیت‌ها و نشت محتوای سیتوپلاسمی به جریان خون ایجاد شود (۳, ۱۷). همچنین افزایش ALT ممکن است ناشی از تحرک لیزوزومی و نکروزِ القاشده توسط مالاتیون باشد. افزایش ALP و بیلی‌روبین نیز می‌تواند به انسداد مسیر صفراوی براثر هیپرتروفی سلول‌های هپاتوسیت مرتبط باشد (۱۸). در مجموع، یافته‌های این مطالعه با مطالعات پیشین همخوانی دارد که گزارش کرده‌اند آسیب غشای سلولی کبد موجب آزادسازی ALT، AST، ALP و افزایش بیلی‌روبین در سرم می‌شود (۱۴, ۱۷).

اثرات محافظتی هسپریدین، به‌عنوان یک فلاوانون گلیکوزیله با توان بالای آنتی‌اکسیدانی، در مطالعات متعدد تأیید شده است (۷, ۹). به‌عنوان نمونه، کارابِکِر (Karabekir) و همکاران (۲۰۲۵) گزارش کردند که هسپریدین به‌صورت وابسته به دوز موجب کاهش معنی‌دار سطوح آنزیمی AST و ALT در موش‌های صحرایی دچار هپاتوتوکسیسیته القاشده با دلتامترین می‌شود (۱۹). یافته‌های مطالعهٔ حاضر، اگرچه هسپریدین تنها در یک دوز تجویز شد، با نتایج آنان مطابقت دارد.

در مطالعه‌ای که توسط چراغپور (Cheraghpour) و همکاران در سال ۲۰۱۹ انجام شد، مشخص گردید که هسپریدین توانایی کاهش سطح سرمی آنزیم‌های کبدی در بیماران مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی را دارد (۲۰). همچنین، مطالعه کاگلایان (Caglayan) و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که هسپریدین ازطریق مکانیسم‌های ضدآپوپتوتیک و آنتی‌اکسیدانی قادر است سطوح سرمی AST، ALT و ALP را در مدل سمیت کبدی ناشی از سدیم‌فلوراید کاهش دهد (۲۱). بر این اساس، هسپریدین می‌تواند به‌عنوان یک عامل محافظتی بالقوه در مدیریت و کاهش سمیت کبدی ناشی از ترکیبات ارگانوفسفره مطرح شود. این مطالعه برای اولین بار ثابت می‌کند که هسپریدین می‌تواند اثرات سمیت کبدی القاشده با مالاتیون را کاهش دهد.

در مطالعهٔ حاضر، بافت کبد موش‌های سوری مواجهه‌یافته با مالاتیون، الگوی بارزی از هپاتوتوکسیسیته شامل دژنراسیون هپاتوسیت‌ها و نکروز سلولی را نشان داد. در مقابل، تیمار با هسپریدین سبب کاهش قابل‌توجه این آسیب‌های بافتی شد. مطالعات پیشین نیز تأیید کرده‌اند که افزایش ارتشاح سلول‌های التهابی و نکروز کبدی از پیامدهای مستقیم سمیت مالاتیون و اختلال در مکانیسم‌های سم‌زدایی و پاسخ‌های التهابی کبد است (۱۸, ۲۲).

کبد به‌طور عمده ازطریق آنزیم‌های خانوادهٔ ۴۵۰p در فرایند بیوترانسفورماسیون شرکت می‌کند. به‌نظر می‌رسد مواجههٔ طولانی‌مدت با مالاتیون در این مطالعه، عملکرد مسیرهای وابسته به ۴۵۰p یا سیستم انتقال غشایی میتوکندری را مهار کرده و در نتیجه موجب اختلال انرژی، استرس اکسیداتیو شدید و نهایتاً مرگ سلولی در هپاتوسیت‌ها شده است (۵). در تأیید این یافته‌ها، کالیندر (Kalender) و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که مالاتیون با افزایش تولید ROS در هپاتوسیت‌ها، پراکسیداسیون لیپیدی و ترشح سیتوکین‌های التهابی را تشدید می‌کند؛ عواملی که در بروز التهاب، فیبروژنز و استئاتوز کبدی نقش اساسی دارند (۲۳).

در مطالعه‌ای که توسط گور (Gur) و کاندِمیر (Kandemir) در سال ۲۰۲۳ انجام شد، مشخص شد که استرس اکسیداتیو و استرس شبکهٔ آندوپلاسمی با القای آپوپتوز و اتوفاژی نقش مهمی در تخریب بافت کبد ایفا می‌کنند (۱۴).

ازسوی‌دیگر، هسپریدین به‌دلیل ویژگی‌های قوی آنتی‌اکسیدانی، ضدآپوپتوتیکی و ضدالتهابی خود، قادر است آسیب‌های بافتی ناشی از ترکیبات سمی را تعدیل کند. شواهد نشان داده‌اند که این ترکیب با کاهش پاسخ‌های التهابی و مهار نشانگرهای پیروپتوز، می‌تواند سمیت کلیوی و یا کبدی القاشده بترتیب با مالاتیون و کلرپیریفوس را نیز بهبود بخشد (۹, ۲۴). به‌طور مشابه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی هسپریدین، ازطریق حذف رادیکال‌های آزاد، پراکسیدها و اکسید نیتریک، و توانایی آن در کاهش بیان فاکتورهای التهابی نظیر TNF-α و IL-6 (فعال‌شده توسط سلول‌های کوپفر) و مهار مسیر NF-κB، و یا همچنین ازطریق تنظیم‌کردن فعالیت مسیرهای TGF-β۱، Smad۳، و PPARγ می‌تواند بافت کبد را دربرابر آسیب‌های ناشی از دیکلوفناک، تتراکلرید

کربن، لیپوپلی‌ساکارید و دی اتیل نیتروزامین محافظت کند (۲۵–۲۸).
آخرین قسمت از نتایج مطالعهٔ حاضر نشان می‌دهد که مالاتیون موجب کاهش معنی‌دار ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) و افزایش قابل‌توجه پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) در بافت کبد شد. در مقابل، تیمار با هسپریدین این تغییرات را تعدیل کرد و با کاهش MDA و افزایش TAC اثر محافظتی قابل‌توجهی نشان داد. مالون‌دی‌آلدئید شاخص شناخته‌شدهٔ پراکسیداسیون لیپیدی است و به‌طور گسترده برای ارزیابی شدت آسیب اکسیداتیو ناشی از استرس‌های محیطی به‌کار می‌رود. افزایش MDA عمدتاً در نتیجهٔ حملهٔ رادیکال‌های آزاد به لیپیدهای غشایی و ناکافی‌بودن دفاع آنتی‌اکسیدانی جهت مهار تشکیل ROS ایجاد می‌شود (۲۹). ازسوی‌دیگر، TAC بازتاب‌دهندهٔ توانایی سلول در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی باقیمانده پس از مقابله با ROS است (۲۹). کاهش TAC همراه با افزایش MDA در گروه مالاتیون نشان می‌دهد که تعادل اکسیدانی– آنتی‌اکسیدانی به‌نفع تولید ROS برهم خورده و پراکسیداسیون لیپیدی شدید رخ داده است. مالاتیون با القای استرس اکسیداتیو، افزایش تولید ROS و تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، کاهش آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زاد و آسیب سلولی می‌شود (۳۰).
گزارش عبدالسلام (Abdel-Salam) و همکاران (۲۰۱۷) نیز نشان داد که تزریق داخل صفاقی ۱۵۰ میلی گرم/کیلوگرم مالاتیون موجب افزایش MDA و کاهش TAC در بافت کبد می‌شود (۳۱). علاوه‌براین، یافته‌های اید (Eid) و همکاران (۲۰۲۴) حاکی از آن است که مواجهه با مالاتیون سطح MDA را افزایش داده و سبب کاهش فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود (۳۲). در مطالعه‌ای که توسط گامری (Ghamry) و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام شد، مشخص گردید که مالاتیون با افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و نیتریک اکساید و کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در دفاع آنتی‌اکسیدانی، شامل سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون، منجر به آسیب بافت کبدی می‌شود (۳۳).
در مقابل، مطالعات متعدد ثابت کرده‌اند که هسپریدین قادر است با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام را ارتقا دهد (۷, ۱۲, ۲۷). مطابق با نتایج پژوهش حاضر، در مطالعات مختلف نیز تجویز داخل صفاقی یا خوراکی هسپریدین در مدل‌های حیوانی سمیت کبدی ناشی از سیس‌پلاتین، نانوذرات اکسید روی، متوترکسات و سدیم آرسنیت باعث کاهش سطح MDA و افزایش گلوتاتیون، SOD، CAT و TAC شده است (۳۴, ۳۵). این یافته‌ها اثربخشی قوی هسپریدین را در تعدیل استرس اکسیداتیو و حفاظت از بافت کبد تأیید می‌کنند.

نتیجه‌گیری

مطالعهٔ حاضر نشان داد که استرس اکسیداتیو ناشی از مالاتیون نقش مهمی در ایجاد آسیب‌های کبدی دارد. هسپریدین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود توانست از افزایش رادیکال‌های آزاد، اختلال در عملکرد آنزیم‌های کبدی و آسیب بافتی جلوگیری کند. برای اولین بار، اثرات محافظتی هسپریدین بر آسیب بافت کبدی ناشی از مالاتیون در این مطالعه گزارش می‌شود و اهمیت این ترکیب به‌عنوان یک عامل حفاظتی طبیعی دربرابر سمیت‌های ناشی از آفت‌کش‌های ارگانوفسفره تأکید می‌گردد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی بیرجند و کد IR.BUMS.REC.1401.104، مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و دستورالعمل‌های ARRIVE انجام شد.

حامی مالی

این پژوهش حاصل از پایان‌نامه دوره پزشکی عمومی سرکار خانم دکتر نادیا یوسفی است. این پایان‌نامه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند و با کد طرح ۴۵۶۷۷۳ انجام شده است.

مشارکت نویسندگان

حامد شورئی: طراحی مطالعه، نظارت بر اجرای پژوهش و بررسی هیستولوژیک بافت کبد؛ محمدامین عبداللهی‌ضیاءالدینی: انجام آزمایش‌های آزمایشگاهی، نگارش و بازبینی مقاله؛ نادیا یوسفی: اجرای پایان‌نامه و نگارش اولیه آن؛ ذبیح‌الله محقق: مشارکت در طراحی مطالعه و انجام تحلیل‌های آماری. تمامی نویسندگان نسخه نهایی مقاله را مطالعه و تأیید کرده‌اند و مسئولیت محتوای آن را پذیرفته‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می دارند که هیچگونه تعارض منافع ندارند.

تشکر و قدردانی

با کمال احترام از استاد محترم، جناب آقای دکتر حامد شورئی و سایر همکاران گرامی برای راهنمایی‌ها و حمایت‌های ارزشمندشان در تمامی مراحل انجام این پژوهش صمیمانه قدردانی می‌نمایم.

References

1.Gin S, Prasad SB, Giri A, Sharma GD. Genotoxic effects of malathion: an organophosphorous insecticide using three mammalian biossays in vitro. Mutat Res. 2002;514:223-31.[10.1016/s1383-5718(01)00341-2] [PMID]
2.Elmorsy E, Al-Ghafari A, Al Doghaither H, Salama M, Carter WG. An Investigation of the Neurotoxic Effects of Malathion, Chlorpyrifos, and Paraquat to Different Brain Regions. Brain Sci. 2022;12(8). [10.3390/ brainsci12080975][PMID]
3.Severcan Ç, Ekremoglu M, Sen B, Pasaoglu O, Akyurek N, Severcan S, Pasaoglu H. Acute effects of different doses of malathion on the rat liver. Clinical and Experimental Hepatology. 2019 Sep 5;5(3):237-43. [10.5114/ceh.2019.87637][PMID]
4.Hernández-Toledano DS, Estrada-Muñiz E, Vega L. Genotoxicity of the organophosphate pesticide malathion and its metabolite dimethylthiophosphate in human cells in vitro. Mutation research Genetic toxicology and environmental mutagenesis. 2020;856-857:503233. [10.1016/j.mrgentox.2020.503233][PMID]
5.Buratti FM, D'Aniello A, Volpe MT, Meneguz A, Testai E. Malathion bioactivation in the human liver: the contribution of different cytochrome P450 isoforms. Drug metabolism and disposition. 2005 Mar 1;33(3):295-302. [10.1124/dmd.104.001693][PMID]
6.Karami-Mohajeri S, Hadian MR, Fouladdel S, Azizi E, Ghahramani MH, Hosseini R, et al. Mechanisms of muscular electrophysiological and mitochondrial dysfunction following exposure to malathion, an organophosphorus pesticide. Human & experimental toxicology. 2014;33(3):251-63. [10.1177/0960327113 493300][PMID]
7.Pyrzynska K. Hesperidin: A Review on Extraction Methods, Stability and Biological Activities. Nutrients. 2022;14(12). [10.3390/nu14122387][PMID]
8.Buzdağlı Y, Eyipınar CD, Kacı FN, Tekin A. Effects of hesperidin on anti-inflammatory and antioxidant response in healthy people: a meta-analysis and meta-regression. International journal of environmental health research. 2023;33(12):1390-405. [10.1080/09603123. 2022. 2093841][PMID]
9.Küçükler S, Çomaklı S, Özdemir S, Çağlayan C, Kandemir FM. Hesperidin protects against the chlorpyrifos-induced chronic hepato-renal toxicity in rats associated with oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and up-regulation of PARP-1/VEGF. Environmental toxicology. 2021 Aug;36(8):1600-17. [10.1002/tox.23156][PMID]
10.Talebi SF, Kooshki A, Zarein M, Seify M, Dolatshahi B, Shoorei H, et al. Protective effect of hesperidin on malathion-induced ovarian toxicity in mice: The role of miRNAs, inflammation, and apoptosis. Toxicology reports. 2024;12:469-76. [10.1016/j.toxrep.2024. 04.003] [PMID]
11.Panahi P, Vosough-Ghanbari S, Pournourmohammadi S, Ostad SN, Nikfar S, Minaie B, et al. Stimulatory effects of malathion on the key enzymes activities of insulin secretion in langerhans islets, glutamate dehydrogenase and glucokinase. Toxicology mechanisms and methods. 2006;16(4):161-7. [10.1080/ 15376520500191623] [PMID]
12.Pari L, Karthikeyan A, Karthika P, Rathinam A. Protective effects of hesperidin on oxidative stress, dyslipidaemia and histological changes in iron-induced hepatic and renal toxicity in rats. Toxicology reports. 2015;2:46-55. [10.1016/j.toxrep.2014.11.003][PMID]
13.Dai C, Xiao X, Li D, Tun S, Wang Y, Velkov T, et al. Chloroquine ameliorates carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice via the concomitant inhibition of inflammation and induction of apoptosis. Cell death & disease. 2018;9(12):1164. [10.1038/s41419-018-1136-2] [PMID]
14.Gur C, Kandemir FM. Molecular and biochemical investigation of the protective effects of rutin against liver and kidney toxicity caused by malathion administration in a rat model. Environmental toxicology. 2023;38(3):555-65. [10.1002/tox.23700][PMID]
15.Singh D, Cho WC, Upadhyay G. Drug-Induced Liver Toxicity and Prevention by Herbal Antioxidants: An Overview. Frontiers in physiology. 2015;6:363. [][PMID]
16.Rezg R, Mornagui B, Kamoun A, El-Fazaa S, Gharbi NJCRB. Effect of subchronic exposure to malathion on metabolic parameters in the rat. 2007;330(2):143-7. [10.3389/fphys.2015.00363][PMID]
17.Lasram MM, Lamine AJ, Dhouib IB, Bouzid K, Annabi A, Belhadjhmida N, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine against malathion-induced liver damages and immunotoxicity in rats. Life sciences. 2014;107(1-2):50-8. [10.1016/j.lfs. 2014.04.033][PMID]
18.Flehi-Slim I, Chargui I, Boughattas S, El Mabrouk A, Belaïd-Nouira Y, Neffati F, et al. Malathion-induced hepatotoxicity in male Wistar rats: biochemical and histopathological studies. Environmental science and pollution research international. 2015;22(22):17828-38. [10.1007/s11356-015-5014-5][PMID]
19.Karabekir SC, Sozen ME, Ayan IC, Savas HB, Cuce G, Kalkan S. The ameliorative effects of hesperidin in rats developed hepatotoxicity with deltamethrin. Iranian journal of basic medical sciences. 2025;28(7):929-36. [10.22038/ijbms.2025.82598.17854][PMID]
20.Cheraghpour M, Imani H, Ommi S, Alavian SM, Karimi-Shahrbabak E, Hedayati M, et al. Hesperidin improves hepatic steatosis, hepatic enzymes, and metabolic and inflammatory parameters in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. Phytotherapy research : PTR. 2019;33(8):2118-25. [10.1002/ptr.6406][PMID]
21.Caglayan C, Kandemir FM, Darendelioğlu E, Küçükler S, Ayna A. Hesperidin protects liver and kidney against sodium fluoride-induced toxicity through anti-apoptotic and anti-autophagic mechanisms. Life Sciences. 2021;281:119730. [10.1016/j.lfs.2021.119730][PMID]
22.Selmi S, Rtibi K, Grami D, Sebai H, Marzouki L. Malathion, an organophosphate insecticide, provokes metabolic, histopathologic and molecular disorders in liver and kidney in prepubertal male mice. Toxicology reports. 2018;5:189-95. [10.1016/j.toxrep. 2017.12 .021] [PMID]

23.Kalender S, Uzun FG, Durak D, Demir F, Kalender Y. Malathion-induced hepatotoxicity in rats: the effects of vitamins C and E. Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. 2010;48(2):633-8. [10.1016/j.fct.2009.11.044][PMID]
24.Saati AA. Hesperidin Alleviates Malathion-Induced nephrotoxicity in Rats: Impact on Oxidative Damage, Inflammation, Pyroptosis and Apoptosis. Bulletin of Egyptian Society for Physiological Sciences. 2025;45(1):95-108.
25.Hassan RA, Hozayen WG, Abo Sree HT, Al-Muzafar HM, Amin KA, Ahmed OM. Naringin and Hesperidin Counteract Diclofenac-Induced Hepatotoxicity in Male Wistar Rats via Their Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antiapoptotic Activities. Oxidative medicine and cellular longevity. 2021;2021:9990091. [10.1155/ 2021/ 9990091][PMID]
26.Al-Rikabi R, Al-Shmgani H, Dewir YH, El-Hendawy S. In vivo and in vitro Evaluation of the Protective Effects of Hesperidin in Lipopolysaccharide-Induced Inflammation and Cytotoxicity of Cell. Molecules (Basel, Switzerland). 2020;25(3). [10.3390/molecules25030478][PMID]
27.Çetin A, Çiftçi O, Otlu A. Protective effect of hesperidin on oxidative and histological liver damage following carbon tetrachloride administration in Wistar rats. Archives of medical science : AMS. 2016;12(3):486-93. [10.5114/aoms.2015.49484][PMID]
28.Mahmoud AM, Mohammed HM, Khadrawy SM, Galaly SR. Hesperidin protects against chemically induced hepatocarcinogenesis via modulation of Nrf2/ARE/HO-1, PPARγ and TGF-β1/Smad3 signaling, and amelioration of oxidative stress and inflammation. Chemico-biological interactions. 2017;277:146-58. [10.1016/j.cbi.2017. 09. 015][PMID]
29.Freyre EO, Valencia AT, Guzmán DD, Maldonado IC, Ledezma LE, Carrillo MF, Escorza MA. Oxidative stress as a molecular mechanism of exposure to organophosphorus pesticides: a review. Current Protein and Peptide Science. 2021 Dec 1;22(12):890-7. [10.2174/1389203722666211122092309][PMID]
30.Althobaiti SA. MitoQ alleviates malathion-induced hepatorenal toxicity via oxidative stress and inflammation modulation. Molecular medicine reports. 2025;32(5). [10.3892/mmr.2025.13661][PMID]
31.Abdel-Salam OM, Youness ER, Mohammed NA, Yassen NN, Khadrawy YA, El-Toukhy SE, Sleem AA. Nitric oxide synthase inhibitors protect against brain and liver damage caused by acute malathion intoxication. Asian Pacific journal of tropical medicine. 2017 Aug 1;10(8):773-86.
32.Eid RA, Abadi AM, Alghamdi MA, El-Kott AF, Mohamed G, Al-Shraim M, et al. Echinops Asteraceae extract guards against malathion-induced liver damage via minimizing oxidative stress, inflammation, and apoptosis. Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology. 2024;244:107750. [10.1016/j.toxicon. 2024. 107750][PMID]
33.Ghamry HI, Aboushouk AA, Soliman MM, Albogami SM, Tohamy HG, Okle OSE, et al. Ginseng(®) Alleviates Malathion-Induced Hepatorenal Injury through Modulation of the Biochemical, Antioxidant, Anti-Apoptotic, and Anti-Inflammatory Markers in Male Rats. Life (Basel, Switzerland). 2022;12(5). [10.3390/ life 12050771][PMID]
34.Turk E, Kandemir FM, Yildirim S, Caglayan C, Kucukler S, Kuzu M. Protective Effect of Hesperidin on Sodium Arsenite-Induced Nephrotoxicity and Hepatotoxicity in Rats. Biological trace element research. 2019;189(1):95-108. [10.1007/s12011-018-1443-6][PMID]
35.Abdelaziz RM, Abdelazem AZ, Hashem KS, Attia YA. Protective effects of hesperidin against MTX-induced hepatotoxicity in male albino rats. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology. 2020;393(8):1405-17. [10.1007/s00210-020-01843-z][PMID]

Authors retain the copyright and full publishing rights.
Published by Ahvaz Jundishapur University of Medical Science. This article is an open access article licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).