

Akut yüzme egzersizi yaptırılan diyabetik sıçanlarda intraperitoneal çinko sülfat uygulamasının kas dokusundaki lipid peroksidasyonuna etkisi*

Mürsel Biçer¹, Sadettin Ünsal²

¹Gaziantep Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu, Gaziantep

²Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş akut yüzme egzersizi yaptırılan sıçanlarda çinko uygulamasının kas dokusundaki lipid peroksidasyonu ve antioksidan kapasite üzerindeki etkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Spraque-Dawley cinsi 80 adet erişkin erkek ratlar kullanılan çalışmada. deney hayvanları eşit sayıda 8 gruba ayrıldı: Grup 1, genel kontrol. Grup 2, çinko uygulanan kontrol. Grup 3, çinko uygulanan diyabetli kontrol. Grup 4, yüzme kontrol. Grup 5, çinko uygulanan yüzme. Grup 6, çinko uygulanan diyabetli yüzme. Grup 7, diyabetli yüzme. Grup 8, diyabet grubu. Diyabet oluşturmak için hayvanlara 40 mg/kg dozunda intraperitoneal (ip) streptozotosin (STZ) enjekte edildi. Enjeksiyonlar 24 saat sonra aynı dozda tekrarlandı. Son enjeksiyonlardan 6 gün sonra kan glukozu 300 mg/dl ve üzerinde olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi. Hayvanlara 4 hafta boyunca 6 mg/kg/gün ip çinko sülfat verildi. Dört hafta süren çalışmanın bitiminde deney hayvanlarından dekapitasyonla alınan kas doku örneklerinde MDA (nmol/gram/ protein) ve GSH (mg/dl/gram protein) düzeyleri tayin edildi.

Bulgular: Kas dokusundaki en yüksek MDA değerleri grup 4 ve 7'de elde edildi. Grup 5 ve 6'nın kas MDA seviyeleri grup 4 ve 7'den düşük, diğer grupların tamamından yüksekti. Grup 5 ve 6 en yüksek kas GSH değerlerine sahipti. Grup 4'ün aynı parametresi grup 5 ve 6'dan düşük diğer grupların tamamından daha yüksekti. Kas dokusundaki en düşük GSH düzeyleri Grup 7 ve 8'de elde edildi.

Sonuç: Çalışmanın sonuçları diyabetik sıçanlarda zorlu yüzme egzersizinin yol açtığı kas dokusundaki lipid peroksidasyonu üzerinde intraperitoneal çinko sülfat uygulamasının koruyucu rolü olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Çinko, diyabet, kas doku, lipid peroksidasyon, egzersiz

Abstract

Objective: The objective of the present study is to explore the effect of zinc supplementation on lipid peroxidation and antioxidant capacity in the muscle tissue of rats which were induced diabetes with streptozotocin and subjected to acute swimming exercise.

Material and Method: The study included 80 adult, male, Spraque-Dawley type rats, which were equally allocated to 8 groups. Group 1, general control. Group 2, zinc-supplemented control. Group 3, zinc-supplemented diabetic control. Group 4, swimming control. Group 5, zinc-supplemented swimming. Group 6, zinc-supplemented diabetic swimming. Group 7, diabetic swimming. Group 8, diabetes group. The animals were injected with 40 mg/kg intraperitoneal (ip) streptozotocin (STZ) to induce diabetes. The injections were repeated after 24 hours. The animals whose blood glucose stood at or over 300 mg/dl on day 6 following the last injection were considered diabetic. The animals were supplemented with 6 mg/kg/day ip zinc sulfate for 4 weeks. At the end of the 4-week study, the animals were decapitated to collect muscle tissue samples, which were analyzed in terms of MDA (nmol/gram/protein) and GSH (mg/dl/gram protein) levels.

Results: The highest MDA values in the muscle tissue were established in groups 4 and 7. Muscle MDA levels in groups 5 and 6 were lower than those in groups 4 and 7, but higher than the levels in all other groups. Groups 5 and 6 had the highest muscle GSH values. Group 4 had this parameter lower than groups 5 and 6, but higher than others. The lowest GSH levels in the muscle tissue were obtained in groups 7 and 8.

Conclusion: Results of the study demonstrate that zinc sulfate supplementation has a protective role against lipid peroxidation caused by strenuous swimming exercise in the muscle tissue of diabetic rats.

Key words: Zinc, diabetes, muscle tissue, lipid peroxidation, exercise

Genel Tıp Derg 2018;28(3):102-106

Alınan: 26.04.2018 / 24.05.2018 / Yayınlanma: 20.09.2018

Yazışma adresi: Mürsel Biçer, Gaziantep Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu, Gaziantep

E-posta: mbicer@gantep.edu.tr

Giriş

Bir çok araştırmacı beslenme ile sağlık, gelişme ve performansı sürdürme arasındaki ilişki üzerinde durmaktadır. Fiziksel aktivite ile beslenme arasındaki etkileşimi tayin etmek için iki yöntem sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlardan birincisi, fiziksel aktiviteye katılanlara değişik içerikli besinler vererek fizyolojik ve performans cevaplarını incelemek, diğeri de fiziksel aktivitenin beslenme üzerindeki etkilerini tayin etmektir (1, 2). Bu nedenle sağlık ve egzersizle, elementlerin ilişkisinin araştırılması konusunda artan bir ilginin olduğu söylenebilir (3).

Pankreas ve insülin ile çinko arasındaki ilişki uzun zamandan beri bilinmektedir. Çinko pankreasın beta ve alfa hücrelerinde bulunur. Özellikle beta hücrelerinde insülin yapımı, depo edilmesi ve salınmasında çinkonun rolü olduğu ileri sürülmektedir (4,5).

Bağışıklık fonksiyonlarında temel bir rolü olduğu bilinen çinkonun (6) bir diğeri önemli fonksiyonu da antioksidan savunma sistemine katılmasıdır (7). Çinko antioksidan etkilerini 2 mekanizma ile sağlar. Bunlardan ilki; redoks stabil olan çinko, kritik sellüler ve ekstrasellüler bölgelerde demir ve bakır gibi redoks reaktif olan metallerin yerine geçer. Diğeri ise; serbest radikallerden koruyan, sülfidril-den zengin proteinler olan metallotiyoneinlerin sentezini indükler (8,9).

Düzenli egzersiz ve fiziksel aktivitenin de kardiyovasküler hastalıklar ve mortalite üzerinde koruyucu etkiye sahip olduğu kabul edilmektedir (10). Bunun sonucu olarak da egzersiz diyabetik hastalar için de büyük ölçüde önerilmektedir (11). Ancak kas egzersizlerinin radikallerin ve diğeri reaktif oksijen türlerinin üretiminde artışa yol açtığı da bildirilmektedir (12). Bununla birlikte, diyabet hastaları gibi oksidatif strese karşı artmış hassasiyete sahip olan gruplarda oksidatif stresle ilişkili akut ve kronik egzersizin yararları yada riskleri yeterince bilinmemektedir (13).

Bu çalışmanın amacı da, streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş akut yüzme egzersizi yaptırılan sıçanlarda çinko uygulamasının kas dokusundaki lipid peroksidasyonu ve antioksidan kapasite üzerindeki etkisinin araştırılmasıdır.

Akut yüzme egzersizi yaptırılan diyabetik sıçanlarda intraperitoneal çinko sülfat uygulamasının kas dokusundaki lipid peroksidasyonuna etkisi - Biçer M. ve Ünsal S.

Gereç ve Yöntem

Hayvan Materyali ve Gruplar:

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinden (Antalya-Türkiye) temin edilen 80 adet Spraque – Dawley cinsi erişkin (4-6 aylık ve 200-250 g ağırlığında) erkek ratlar üzerinde, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Deneysel Hayvanları Ünitesinde (Konya-Türkiye) gerçekleştirildi. Çalışma protokolü Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Yüksek Okulu Etik Kurulu tarafından onaylandı. Çalışmada kullanılan deney hayvanları eşit sayıda 8 gruba ayrıldı:

Grup 1, (n:10) Genel Kontrol Grubu: Hiç bir uygulamanın yapılmadığı normal diyetle beslenen grup.

Grup 2, (n:10) Çinko Uygulanan Kontrol Grubu: Normal diyetle beslenen ve buna ilave olarak 4 hafta boyunca, 6 mg/kg/gün intra peritoneal çinko sülfat uygulanan grup.

Grup 3, (n:10) Çinko Uygulanan Diyabetli Kontrol Grubu: Deri altı Streptozotocin (STZ) “40 mg/kg” uygulanarak diyabet oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca, 6 mg/kg/gün intra peritoneal çinko sülfat uygulanan grup.

Grup 4, (n:10) Yüzme Kontrol Grubu: Normal diyetle beslenen ve 30 dakika akut yüzme egzersizi yaptırılan grup.

Grup 5, (n:10) Çinko Uygulanan Yüzme Grubu: Normal diyetle beslenen ve buna ilave olarak 4 hafta boyunca, 6 mg/kg/gün intra peritoneal çinko sülfat uygulanan ve 30 dakika akut yüzme egzersizi yaptırılan grup.

Grup 6, (n:10) Çinko Uygulanan Diyabetli Yüzme Grubu: Deri altı Streptozotocin (STZ) “40 mg/kg” uygulanarak diyabet oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca, 6 mg/kg/gün intra peritoneal çinko sülfat uygulanan ve 30 dakika akut yüzme egzersizi yaptırılan grup.

Grup 7, (n:10) Diyabetli Yüzme Grubu: Deri altı Streptozotocin (STZ) “40 mg/kg” uygulanarak diyabet oluşturulan ve 30 dakika akut yüzme egzersizi yaptırılan grup.

Grup 8, (n:10) Diyabet Grubu: Deri altı Streptozotocin (STZ) “40 mg/kg” uygulanarak diyabet oluşturulan grup.

Deneysel Hayvanları:

Deneysel hayvanları yıkamak suretiyle her gün temizlenen özel çelik kafeslerde beslendi. Yemler özel çelik kaplar-

da, su cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Hayvanlar her gün vücut ağırlıklarının 100 gramı başına yaklaşık 10 g yemle beslendiler. Deney hayvanları 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ve standart oda sıcaklığı (21±1 oC) sağlanan ortamda tutuldu. Bütün enjeksiyonlar sabah 09:00-10:00 saatleri arasında yapıldı. Diyabetin oluşmasından hemen sonra hayvanlara 4 hafta sürecek i.p. çinko sülfat uygulamalarına başlandı. Dört hafta süren çalışmaların bitiminden hemen sonra hayvanların tamamından sabah 09:00-10:00 saatleri arasında dekapitasyonla gerekli analizlerde kullanılmak üzere kas doku örnekleri alındı. Alınan kas doku örnekleri analiz zamanına kadar -80 oC'de muhafaza edildi.

Deneysel Uygulamalar

Deney Hayvanlarında Diyabet Oluşturulması:

Deney hayvanlarında diyabet oluşturmak amacıyla 40 adet sıçan diyabet grupları olarak ayrıldı. Sıçanlara 40 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal streptozotosin (STZ) "Sigma, S-0130" enjekte edildi. Enjeksiyonlar 24 saat sonra aynı dozda tekrar uygulandı. Son enjeksiyonlardan 6 gün sonra hayvanların kuyruk veninden kan glukoz seviyeleri tanısal bir glukoz kiti kullanılarak ölçüldü. Kan glukozu 300 mg/dlt ve üzerinde olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Çinko Sülfat Uygulaması:

Çinko sülfat uygulaması distile suda çözüldükten sonra 0.5 ml serum fizyolojik içinde 6 mg/kg/gün olarak intraperitoneal enjeksiyonla gerçekleştirildi. Çinko sülfat uygulaması dört hafta boyunca aynı saatler (09.00)'de yapıldı.

Yüzme Egzersizi

Egzersiz yüksekliği ve genişliği 50 cm olan, ısıya dayanıklı, 37 oC sabit ısıda kalmasını sağlayan termostatlı cam yüzme havuzunda gerçekleştirildi. Egzersizler çinko sülfat uygulamalarının bitiminden 24 saat sonra, bir defaya mahsus olmak üzere 30 dakika süre ile yapıldı. Deney hayvanları 2'şerli gruplar halinde yüzdürüldükten sonra analizleri yapılmak üzere kas doku örnekleri alındı.

Biyokimyasal Analizler

Kas Dokusunda MDA Analizleri: % 10'luk hemojenatı sağlamak için kas doku örnekleri +4oC'de 150 mMol KCl ile

hemojenize edildi (Microsan Ultrasonic Cell Disruptor Misonic). 2 ml HClO₄ 2 ml hemojenata ilave edilerek 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. MDA seviyesi süpernetantda değerlendirildi. 3 ml H₃PO₄, 1 ml %0.675 tiobarbitirik asit ve 0.5 ml hemojenat karıştırıldı ve sonra kaynar su banyosu içerisinde 45 dakika bekletildi. Kas MDA seviyeleri spektrofotometre de "Shimadzu-1601, Japan" Uchiyama ve Mihara yöntemiyle 532 nm'de ölçülerek nmol/gram/ protein olarak tayin edildi.

Kas Dokusunda GSH Tayinleri: % 10'luk hemojenatı sağlamak için kas doku örnekleri +4oC'de 150 mMol KCl ile hemojenize edildi (Microsan Ultrasonic Cell Disruptor Misonic) ve 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatantdaki GSH seviyesi Ellmann metodu ile spektrofotometrede belirlendi. Doku protein konsantrasyonu biüret metodu kullanılarak gerçekleştirildi. GSH seviyesi mg/g/ protein olarak tayin edildi.

İstatistiksel Değerlendirmeler:

Verilerin analizi SPSS 10,3 paket programı kullanılarak yapıldı. Diğer bütün parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart hataları hesaplandı. Gruplar arasındaki farklılıkların tespiti için varyans analizi uygulandı. Varyans analizi sonucu farklılık bulunan verilerin önem derecelerini belirlemek ve grup ortalamalarını karşılaştırmak için Asgari Önemli Fark (Least Significant Difference "LSD") Testi kullanıldı. P<0.05 düzeyindeki farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar ± standart sapma olarak verildi.

Bulgular

Kas dokusundaki en yüksek MDA değerleri grup 4 ve 7'de elde edildi. Grup 5 ve 6'nın kas MDA seviyeleri grup 4 ve 7'den düşük, diğer grupların tamamından yüksekti. Grup 5 ve 6 en yüksek kas GSH değerlerine sahipti. Grup 4'ün aynı parametresi grup 5 ve 6'dan düşük diğer grupların tamamından daha yüksekti. Kas dokusundaki en düşük GSH düzeyleri Grup 7 ve 8'de elde edildi.

Tablo. Grupların kas dokusundaki MDA (nmol/gram/protein) ve GSH (mg/dl/gram protein) düzeyleri.

| Gruplar | MDA | GSH |
|-------------------------------------|---------------|-------------|
| 1 Genel Kontrol | 95.45±17.24C | 15.56±4.90C |
| 2 Çinko Uygulanan Kontrol | 93.66±18.32C | 16.49±3.97C |
| 3 Çinko Uygulanan Diyabetli Kontrol | 94.62±17.30C | 16.85±4.12C |
| 4 Yüzme Kontrol | 197.62±31.63A | 26.98±3.81B |
| 5 Çinko Uygulanan Yüzme | 111.87±20.55B | 33.68±7.38A |
| 6 Çinko Uygulanan Diyabetli Yüzme | 128.37±22.45B | 35.06±9.78A |
| 7 Diyabetli Yüzme | 203.26±38.91A | 10.88±3.79D |
| 8 Diyabet Grubu | 98.50±20.59C | 10.75±3.77D |

*Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.001).

Tartışma

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada en yüksek kas dokusundaki MDA değerleri grup 4 (yüzme kontrol) ve 7 (diyabetli yüzme grubu)'de elde edildi. Lipid peroksidasyonunun diyabet durumlarında önemli ölçüde arttığı bilinmektedir (14, 15). Çelişen bilgiler olmasına karşın, fiziksel egzersizin serbest radikal oluşumunu artırdığı kabul edilmektedir (16). Ağır bir egzersiz esnasında tüm vücut oksijen alınımı dinlenme düzeyine göre yaklaşık 20 kat kadar artabilmektedir. Bununla birlikte aktif kas liflerinde oksijen tüketimi 200 kat kadar artabilmektedir (17). Bu gelişen olayların sonucunda da, mitokondriyal metabolik sızıntıların varlığı egzersiz sırasında serbest radikal üretiminde artışa yol açmaktadır (18). Bu yönüyle grup 4 ve 7'de elde ettiğimiz yüksek kas MDA değerleri beklenen bir sonuç olarak görülebilir ve yukarıda raporları sunulan araştırmacıların sonuçlarıyla da uyum arz eder.

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada en yüksek kas dokusundaki GSH değeri çinko uygulanan yüzme grubu (grup 5) ile çinko uygulanan diyabetli yüzme grubunda (grup 6) tespit edildi. Bir çok çalışma egzersizde antioksidan aktivite ve çinko arasındaki ilişkiye odaklanmış görünmektedir (19, 20). Yüzme egzersizi yaptırılan eğitimli farelerde çinkodan eksik diyetin antioksidan sistemde baskılanmaya yol açtığı bildirilmesi (21), veya yoğun yüzme egzersizi yaptırılan ratlarda baskılanmış olan GSH düzeylerinin çinko uygulamasıyla arttığı gösterilmesi (22), grup 5'de elde ettiğimiz yükselmiş GSH seviyelerini destekleyen sonuçlardır. Çinko uygulanan diyabetli yüzme grubunda elde ettiğimiz yüksek GSH düzeylerinin çinko uygulamasının bir sonucu olarak ortaya çıktığı söylenebilir. Çünkü çalış-

mamızda en düşük GSH değerlerini çinko uygulamasının yapılmadığı diyabetli yüzme grubu (grup 7) ile yüzme egzersizi yaptırılmayan diyabet grubunda (grup 8) elde ettik. Bir çok araştırmacı diyabette antioksidan aktivitenin baskılandığını rapor etmişlerdir (23). Grup 7 ve 8'de elde ettiğimiz baskılanmış GSH değerleri diyabetin beklenen bir komplikasyonudur. Burada vurgulanması gereken çinko uygulamasının diyabetli yüzme grubunda (grup 6) diyabette baskılanan GSH değerlerini yükseltmesidir. Streptozotocin ile diyabet oluşturulmuş tavşanlarda baskılanan antioksidan aktivitenin çinko uygulamasıyla düzeldiğinin bildirilmesi (20), çalışmamızda elde ettiğimiz diyabetli gruplarda azalmış GSH değerlerinin çinko desteğiyle artması şeklindeki bulgumuzu destekleyen önemli bir rapordur.

Çalışmanın sonuçları diyabetik sıçanlarda zorlu yüzme egzersizinin yol açtığı kas dokusundaki lipid peroksidasyonu üzerinde intraperitoneal çinko sülfat uygulamasının koruyucu rolü olduğunu göstermektedir.

Kaynaklar

1. Baltacı SB, Mogulkoc R, Baltacı AK. Resveratrol and exercise. *Biomed Rep* 2016; 5(5):525-30.
2. Bicer M, Baltacı SB, Patlar S, Mogulkoc R, Baltacı AK. Melatonin has a protective effect against lipid peroxidation in the bone tissue of diabetic rats subjected to acute swimming exercise. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2018 Mar 16;34(2). pii:/j/hmbci.2018.34.issue-2/hmbci-2017-0079/hmbci-2017-0079.xml.
3. Sivrikaya A, Bicer M, Akil M, Baltacı AK, Mogulkoc R. Effects of zinc supplementation on the element distribution in kidney tissue of diabetic rats subjected to acute swimming. *Biol Trace Elem Res* 2012;147(1-3):195-9.
4. Brandao-Neto J, Silva CAB, Rezende AA, Almeida MG, Sales VSP, Marchini JS. Zinc pharmacokinetics in insulin-dependent diabetes mellitus patients after oral zinc tolerance test. *Nutr Res* 2003;23:141-50.
5. Gold G, Grodsky GM. Kinetic aspects of compartmental storage and secretion of insulin and zinc. *Experientia* 1984;40:1105-14.
6. Baltacı SB, Mogulkoc R, Baltacı AK, Emsen A, Artac H. The effect of zinc and melatonin supplementation on immunity parameters in breast cancer induced by DMBA in rats. *Arch Physiol Biochem* 2018;124(3):247-52.
7. Bicer M, Gunay M, Baltacı AK, Uney K, Mogulkoc R, Akil M. Effect of zinc supplementation on lipid peroxidation and lactate levels in rats with diabetes induced by streptozotocin and subjected to acute swimming exercise. *Bratisl Lek Listy* 2012;113(4):199-205.
8. Stehbens WE. Oxidative stress, toxic hepatitis, and antioxidants with particular emphasis on zinc. *Exp Mol Pathol*

2003;75:265-76.

9. Tapiero H, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother* 2003;57:399-411.
10. Paffenbarger RS, Kampert JB, Lee IM, Hyde RT, Leung RW, Wing AL. Changes in physical activity and other lifestyle patterns influencing longevity. *Med Sci Sports Exerc* 1994;26:857-65.
11. Kim JD, Yu BP, McCarter RJM, Lee SY, Herlihy JT. Exercise and diet modulate cardiac lipid peroxidation and antioxidant defenses. *Free Radic Biol Med* 1996;20:83-8.
12. Powers SK, Hamilton K. Antioxidants and exercise. *Clin Sports Med* 1999;18:525-36.
13. Laaksonen DE, Atalay M, Niskane L, Uusitupa M, Hanninen O, Sen CK. Increased resting and exercise-induced oxidative stress in young IDDM men. *Diabetes Care* 1996;19: 569-74.
14. Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomed Pharmacother* 2005; 59:365-73.
15. Kuroki T, Isshiki K, King GL. Oxidative stress: the lead or supporting actor in the pathogenesis of diabetic complications. *J Am Soc Nephrol* 2003;4:216-20.
16. Kanter M. Free radicals, exercise and antioxidant supplementation. *Proc Nutr Soc* 1998;57:9-13.
17. Child RB, Wilkinson DM, Fallowfield JL, Donnelly AE. Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. *Med Sci Sports Exerc* 1998;30:1603-7.
18. Jenkins RR. Exercise, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Int J Sport Nutr* 1993;3:356-75.
19. Cordova A, Alvarez-Mon M. Behaviour of zinc in physical exercise: a special reference to immunity and fatigue. *Neurosci Biobehav Rev* 1995;19:439-45.
20. Duzguner V, Kaya S. Effect of zinc on the lipid peroxidation and the antioxidant defense systems of the alloxan-induced diabetic rabbits. *Free Radic Biol Med* 2007;42:1481-6.
21. Cao GH, Chen JD. Effects of dietary zinc on free radical generation, lipid peroxidation, and superoxide dismutase in trained mice. *Arch Biochem Biophys* 1991;291:147-53.
22. Jana K, Samanta PK, Manna I, Ghosh P, Singh N, Khetan RP, Ray BR. Protective effect of sodium selenite and zinc sulfate on intensive swimming-induced testicular gamatogenic and steroidogenic disorders in mature male rats. *Appl Physiol Nutr Metab* 2008;33:903-14.
23. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM (2003) Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and cell dysfunction. *Diabetes* 2003;52:1-8.