

## Effect of four weeks high intensity interval training versus aerobic exercise on metallothionein levels of myocardial tissue in rats

M. Shabani\*

M. Sherafati Moghadam\*

F. Daryanoosh\*

\* School of Education and Psychology, Shiraz University, Shiraz, Iran

### \*Abstract

**Background:** Oxidative species produced during exercise can cause damages to some tissues such as kidney, liver and skeletal muscle. It seems that metallothionein plays a protective role against these actions.

**Objective:** To assess the effect of four weeks of high intensity interval training versus aerobic exercise on metallothionein levels of myocardial tissue in healthy male rats.

**Methods:** This experimental study was done on 36 male Wistar rats (2 months of age with an average weight of  $180\pm 20$ ) in 2015. The rats were randomly divided into three groups: control (n=12), high intensity interval training (n=12), and aerobic training (n=12) groups. The experimental groups exercised according to the training program 5 days a week for 4 weeks. During this period, the control group did not have any training programs. One-way ANOVA was used to analyze the data.

**Findings:** The results indicate no significant difference among the mean metallothionein in control, aerobic exercise and high intensity interval training groups. However, the amount of myocardial metallothionein increased as a result of high intensity interval training and decreased during aerobic exercise.

**Conclusion:** It seems that the duration and intensity of exercise need to be adjusted in order to obtain better results.

**Keywords:** Aerobic Training, HIIT, Metallothionein, Myocardial Tissue

**Citation:** Shabani M, Sherafati Moghadam M, Daryanoosh F. Effect of four weeks of high intensity interval training versus aerobic exercise on metallothionein levels of myocardial tissue in rats. J Qazvin Univ Med Sci. 2016; 20 (3): 13-19.

**Corresponding Address:** Farhad Daryanoosh, Department of Physical Education, School of Education and Psychology, Shiraz, Iran

**Email:** daryanoosh@shirazu.ac.ir

**Tel:** +98-917-3014032

**Received:** 28 Nov 2015

**Accepted:** 9 Apr 2016

## مقایسه تأثیر ۴ هفته تمرین‌های هوازی و تناوبی با شدت بالا بر سطوح متالوتیونین بافت قلب موش صحرائی

مریم شعبانی\*

محمد شرافتی مقدم\*

دکتر فرهاد دریانوش\*

\* دانشکده علوم تربیتی و روان‌شناسی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: شیراز، دانشکده علوم تربیتی، بخش تربیت بدنی، تلفن ۰۹۱۷۳۰۱۴۰۳۲

Email: daryanoosh@shirazu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۷

### \* چکیده

**زمینه:** گونه‌های اکسایشی که طی تمرین ورزشی تولید می‌شوند می‌توانند به آسیب بافت‌های کلیه، کبد و عضله اسکلتی منجر شوند. به نظر می‌رسد متالوتیونین یک نقش حفاظتی در برابر این گونه‌ها اعمال می‌کند.

**هدف:** مطالعه به منظور تعیین اثر ۴ هفته تمرین‌های هوازی و تناوبی با شدت بالا بر سطوح متالوتیونین بافت قلب موش صحرائی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۴ بر روی ۳۶ سر موش صحرائی نر ۲ ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزن  $180 \pm 20$  گرم انجام شد. موش‌ها به روش تصادفی به سه گروه، تمرین هوازی (۱۲ سر)، تمرین تناوبی با شدت بالا (۱۲ سر) و شاهد (۱۲ سر) تقسیم شدند. گروه‌های تمرینی ۵ روز در هفته مطابق با برنامه تمرینی به مدت ۴ هفته به فعالیت ورزشی پرداختند. گروه شاهد در این مدت هیچ‌گونه برنامه تمرینی نداشتند. داده‌ها با آزمون آماری آنوا یک طرفه تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** تفاوت معنی‌داری بین میانگین متالوتیونین در گروه‌های شاهد، تمرین هوازی و تمرین تناوبی با شدت بالا وجود نداشت. ولی میزان متالوتیونین قلبی در نتیجه تمرین تناوبی با شدت بالا افزایش و طی تمرین هوازی کاهش یافت.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌ها، به نظر می‌رسد برای نتایج بهتر باید مدت و شدت فعالیت ورزشی را تنظیم کرد.

**کلیدواژه‌ها:** تمرین هوازی، تمرین هوازی با شدت بالا، متالوتیونین، بافت قلبی

### \* مقدمه

کوچک درون سلولی با وزن ۶ تا ۷ هزار دالتون و غنی از سیستئین هستند. آن‌ها در همه جا و در یوکاریوت‌ها حضور دارند و ویژگی‌های ساختاری منحصر به فرد آن‌ها موجب قابلیت‌های اتصال فلزی و اکسیداسیون یا احیای قوی شده است.<sup>(۱)</sup> چهار نسخه اصلی متالوتیونین، MT-1، MT-2، MT-3 و MT-4 در پستانداران شناسایی شده‌اند که بیش‌ترین بیان آن MT-1 و MT-2 هستند.<sup>(۲)</sup> اگرچه متالوتیونین‌ها سال‌ها پیش کشف شده‌اند، اما اهمیت کاربردی آن‌ها همچنان مبهم و عملکرد جدید آن‌ها در حال کشف شدن است.<sup>(۳)</sup>

متالوتیونین‌های به دست آمده در سلول قلب انسان

(MT-2)، قلب را از گونه‌های اکسیداتیو محافظت

بیماری‌های قلبی - عروقی مهم‌ترین علت مرگ و میر و ناتوانی در کشورهای پیشرفته است.<sup>(۱)</sup> اگرچه میزان مرگ و میر بیماری‌های قلبی در دهه‌های اخیر کاهش یافته، ولی همچنان عامل حدود یک سوم تمام مرگ‌های بالای ۳۵ سال است.<sup>(۲)</sup>

تولید گونه‌های واکنشی اکسیژن به اختلال‌های عملکرد انقباضی قلب، کاردیومیوپاتی، آریتمی، آسیب خون‌رسانی مجدد، ایسکمیک و آسیب DNA میتوکندری کمک می‌کند.<sup>(۳)</sup> تحت شرایط فیزیولوژیک، بدن دفاع‌های ضد اکسیداتیو مناسبی برای مقابله با تولید رادیکال‌های آزاد دارد.<sup>(۴)</sup>

متالوتیونین‌ها (MTs) یک گروه از مولکول‌های

(۱۲ سر) و شاهد (۱۲ سر) تقسیم شدند. موش ها در حیوان خانه دانشکده تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تهران با دمای  $22 \pm 2$  درجه، رطوبت ۵۰ تا ۶۰ درصد و چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲-۱۲ ساعت نگه داری شدند. به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن هر موش، ۱۰ گرم غذا براساس وزن کشتی هر سه روز یکبار و همچنین آب مورد نیاز حیوان به صورت آزاد در بطری ۵۰۰ میلی لیتری ویژه حیوان های آزمایشگاهی، در اختیار آن ها قرار داده شد.

پس از وزن کشتی، موش ها برای آشنایی با نوارگردان به مدت ۲ هفته با سرعت ۱۲ متر بر دقیقه، روی نوارگردان دویدند. سپس گروه هوازی مطابق برنامه تمرینی، به مدت ۴ هفته و هر هفته ۵ جلسه به تمرین ورزشی پرداختند. کل مدت زمان دویدن موش ها بر روی نوارگردان در هر جلسه ۴۲ دقیقه بود؛ شامل ۶ دقیقه گرم کردن (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی)، ۳۰ دقیقه تمرین هوازی (۷۰ تا ۷۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و ۶ دقیقه سرد کردن (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی). برنامه تمرینی گروه تمرین تناوبی با شدت بالا، به مدت ۴ هفته و هر هفته ۵ جلسه، شامل دویدن با شدت ۹۰ تا ۱۰۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی بر روی نوارگردان مخصوص جوندگان بود که در رأس ساعت ۹ صبح در طول روز انجام شد. مدت زمان دویدن بر روی نوارگردان به مدت ۳۰ دقیقه به شرح زیر بود: ۶ دقیقه گرم کردن (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی)، سه دوره تمرین ۴ دقیقه ای با تناوب شدید (۹۰ تا ۹۵ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی)، دو دوره تمرین ۳ دقیقه ای با شدت کم (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی) و ۶ دقیقه سرد کردن (۵۰ تا ۶۰ درصد حداکثر اکسیژن مصرفی). در این گروه، شیب نوارگردان صفر درجه بود و در ۴ هفته تغییری نداشت.<sup>(۱۳ و ۱۴)</sup> در این مدت، گروه شاهد هیچ گونه برنامه تمرینی نداشتند.

برای از بین بردن آثار حاد تمرین و متغیرهای غیرقابل کنترل تنش، موش ها ۲۴ ساعت پس از آخرین جلسه تمرین با رعایت اصول اخلاقی و با تزریق درون

می کنند. تجزیه و تحلیل وسترن بلات در یک مطالعه نشان داد که حفاظت در مقابل گونه های اکسیداتیو توسط متالوتیونین افزایش قابل توجهی یافته است.<sup>(۸ و ۷)</sup> تمرین های ورزشی می توانند بر زیست شناسی اکسیداسیون یا احیا تأثیر مثبت یا منفی داشته باشند که به نوع آن (کوتاه مدت یا بلندمدت)، خصوصیات و زمان تمرین ورزشی بستگی دارد.<sup>(۹)</sup> تغییرهای مفیدی در نتیجه تمرین با شدت متوسط و منظم مشاهده شده است. برعکس، تمرین های ورزشی کوتاه مدت و شدید از جمله تمرین های تناوبی با شدت بالا ممکن است به صورت نادرست تنش اکسیداتیو را افزایش دهند و تأثیرهای معکوسی بر سلامت را القا کنند.<sup>(۹)</sup> چن و همکاران (۲۰۰۸) به اثر حفاظتی ورزش درمانده ساز بر روی متالوتیونین در قلب موش های صحرایی مبتلا به سکنه قلبی را بررسی کردند و نشان دادند که سطوح متالوتیونین گروه تمرین ورزشی شنا در مقایسه با گروه شاهد کاهش و سطوح متالوتیونین گروه تمرین ورزشی شنا به همراه مکمل، نسبت به گروه تمرین ورزشی شنا افزایش یافت.<sup>(۱۰)</sup> در مطالعه پودهورسکا و همکاران بیان متالوتیونین در موش هایی که فعالیت ورزشی کوتاه مدت و استقامتی انجام داده بودند، افزایش قابل توجهی را نشان داد.<sup>(۱۱)</sup>

نظر به این که مطالعه های اندکی به بررسی اثر فعالیت ورزشی بر روی غلظت متالوتیونین در قلب پرداخته اند و با توجه به نقش ضد اکسیدانی آن در برابر گونه های واکنشی، مطالعه حاضر با هدف تأثیر تمرین های هوازی و تناوبی با شدت بالا بر سطوح متالوتیونین بافت قلبی در موش صحرایی انجام شد.

### \* مواد و روش ها:

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۴ بر روی ۳۶ سر موش صحرایی نر ۲ ماهه از نژاد ویستار با میانگین وزن  $180 \pm 20$  گرم انجام شد. موش ها به روش تصادفی به ۳ گروه تمرین هوازی (۱۲ سر)، تمرین تناوبی با شدت بالا

### \* بحث و نتیجه گیری:

این مطالعه نشان داد چهار هفته تمرین هوازی و تمرین تناوبی با شدت بالا تغییر معنی داری در سطوح متالوتیونین بافت قلب موش‌های صحرایی ایجاد نکرد. مطالعه‌های اخیر نیز نشان داده‌اند حوادث قلبی-عروقی با تنش اکسایشی در ارتباط هستند و تجمع گونه‌های واکنشی اکسیژن با مرگ سلول‌های قلبی همراه است.<sup>(۱۵)</sup> در مطالعه جولازاده و همکاران اثر دو برنامه تمرینی هوازی پیش‌رونده و تمرین‌های ورزشی استقامتی درمانده‌ساز بر سطوح متالوتیونین بافت قلب موش‌های وپستار انجام شد و نتایج نشان داد که فعالیت درمانده‌ساز به افزایش معنی دار مقادیر متالوتیونین در مقایسه با سطح پایه منجر شد، ولی اجرای هشت هفته تمرین استقامتی تغییر معنی داری در سطوح متالوتیونین گروه تمرینی نسبت به گروه شاهد نشان نداد.<sup>(۱۶)</sup> همانطور که در هر دو مطالعه مشاهده شد فعالیت با شدت بالا (درمانده‌ساز و تمرین تناوبی با شدت بالا) به افزایش میزان متالوتیونین منجر شد، اما این افزایش در مطالعه حاضر معنی دار نبود. تأثیر تمرین‌های شدید، هنوز هم مورد بحث و جدل قرار دارد. برخی از مطالعه‌ها گزارش کرده‌اند که تمرین‌های شدید به افزایش گونه‌های واکنشی و آسیب ساختاری-اسکلتی سلول‌های ماهیچه قلب منجر می‌شود، اما تحقیق‌های دیگر نشان داده‌اند که این تمرین‌ها مقاومت در برابر گونه‌های واکنشی اکسیژن و نیترژن را افزایش و تورم را کاهش می‌دهند.<sup>(۱۷)</sup> با این وجود با افزایش متالوتیونین در قلب، ظرفیت جاروب‌کنندگی رادیکال آزاد آن از ایسکمی قلبی و آسیب خون‌رسانی مجدد جلوگیری می‌کند و اعتقاد بر این است تنش اکسیداتیو در این اختلال‌ها نقش عمده‌ای بازی می‌کند.<sup>(۱۸)</sup> پیشرفت مهم در تحقیق‌ها این است که تظاهرات متالوتیونین‌ها می‌تواند به تنظیم اکسیداسیون و سوخت و ساز بدن و اکسیداسیون یا احیا منجر شود و از این فرضیه پشتیبانی می‌کند که عملکرد متالوتیونین می‌تواند به عنوان یک ضد اکسیدان در برابر اکسیژن، نیترژن و دیگر گونه‌های واکنشی

صفاقی ترکیبی از کتامین (۳۰ تا ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (۳ تا ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند. عضله قلبی از قفسه سینه حیوان برداشته و در سرم فیزیولوژیک شست‌وشو داده و در ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن‌کشی شد. سپس عضله‌ها بلافاصله با استفاده از مایع ازت منجمد و برای سنجش‌های بعدی به فریزر با دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه مرکز تحقیقات سلولی مولکولی پژوهشکده غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه شهید بهشتی انتقال داده شدند. متالوتیونین با استفاده از کیت الایزای مخصوص موش‌های صحرایی (شرکت CusabioBiothech چین) و با درجه حساسیت ۰/۰۳۹ نانوگرم در میلی‌گرم به روش الایزا و با توجه به دستور کارخانه سازنده در دستگاه Elisa Reader (شرکت HUISONG چین) خوانده شد. به منظور محاسبه میانگین و انحراف استاندارد از آمار توصیفی، برای تعیین تفاوت معنی داری سطوح متالوتیونین گروه‌های تمرین با گروه شاهد از آزمون آنوای یک طرفه و در صورت معنی دار بودن، جهت مشخص کردن تفاوت بین دو گروه از آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۹ انجام و سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### \* یافته‌ها:

بالاترین میانگین متالوتیونین (۱/۷۴) نانوگرم بر میلی‌لیتر) در گروه تمرین تناوبی با شدت بالا و کم‌ترین آن (۱/۶۸) نانوگرم بر میلی‌لیتر) در گروه هوازی مشاهده شد، ولی تفاوت معنی داری بین میانگین متالوتیونین در سه گروه وجود نداشت (جدول شماره ۱).

جدول ۱- تحلیل واریانس یک راهه برای مقایسه میانگین متالوتیونین در سه گروه مورد مطالعه

گروه ایلین	میانگین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	مقدار آنوا	درجه آزادی	سطح معنی داری
شاهد	۱/۷۰±۰/۲۱	۰/۱۶۸	۲ و ۳۳	۰/۸۴
تمرین هوازی	۱/۶۸±۰/۲۹			
تمرین تناوبی با شدت بالا	۱/۷۴±۰/۲۷			

متالوتیونین در بافت قلب به دنبال تمرین تناوبی با شدت بالا و کاهش آن طی تمرین هوازی معنی دار نبود، اما از فرضیه مؤثر بودن آن پشتیبانی می کرد. بنابراین با توجه به مزایای تمرین های ورزشی از قبیل افزایش گونه های واکنشی اکسیژن و نیتروژن، این احتمال وجود دارد که تمرین ورزشی از طریق تنظیم سطوح متالوتیونین، بدن را در مقابل عوامل ضد اکسایشی حفاظت می کند.

#### \*سپاس گزاری:

این مقاله حاصل کار تحقیقی دانشجویان فیزیولوژی ورزشی دانشگاه شیراز است. از تمامی افرادی که در این امر مهم ما را یاری کردند، تشکر می شود.

#### \*مراجع:

1. Leon AS, Franklin BA, Costa F, Balady GJ, Berra KA, Stewart KJ, et al. Cardiac rehabilitation and secondary prevention of coronary heart disease an american heart association scientific statement from the council on clinical cardiology (subcommittee on exercise, cardiac rehabilitation, and prevention) and the council on nutrition, physical activity, and metabolism (subcommittee on physical activity), in collaboration with the american association of cardiovascular and pulmonary rehabilitation. *Circulation* 2005 Jan 25; 111 (3): 369-76. doi:10.1161/01.CIR.0000151788.08740.5C.
2. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart disease and stroke statistics--2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2015 Jan 27; 131 (4): e29-322. doi:10.1161/CIR.0000000000000152.
3. Burgoyne JR, Mongue-Din H, Eaton P, Shah AM. Redox signaling in cardiac physiology and pathology. *Circ Res* 2012 Sep 28; 111 (8): 1091-106. doi: 10.1161/

باشد.<sup>(۱۹)</sup> از سوی دیگر در مطالعه جولازاده و همکاران و مطالعه حاضر تمرین ورزشی هوازی به کاهش میزان متالوتیونین در بافت قلب منجر شد که در هر دو تحقیق این میزان معنی دار نبود. تمرین های فیزیکی هوازی می توانند به عنوان یک عامل محرک عمل کنند که انطباق و سازگاری سیستم بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی را القا می کند. تمرین های ورزشی هوازی و منظم به تنظیم ضد اکسیدان ها در حد بالا و کاهش تولید گونه های واکنشی اکسیژن منجر می شوند. این سازگاری و انطباق ممکن است حفاظت در برابر تنش اکسیداتیو را افزایش دهد.<sup>(۹)</sup> این احتمال وجود دارد که تمرین ورزشی هوازی به اندازه تمرین ورزشی درمانده ساز و تمرین تناوبی با شدت بالا به تولید رادیکال های آزاد منجر نشود و شاید یک احتمال کاهش متالوتیونین، نوع برنامه تمرینی باشد. یعنی این که متالوتیونین با توجه به میزان تولید تنش اکسیداتیو تولید می شود.<sup>(۱۶و۱۰)</sup>

تمرین ورزشی با شدت بالا می تواند شرایطی از تنش اکسیداتیو را به وجود آورد که در آن تولید گونه های واکنشی اکسیژن بر سیستم دفاع ضد اکسیدانی غلبه کند. در چنین مواردی گونه های واکنشی اکسیژن می توانند به انواع مولکول های زیستی حمله و باعث از بین رفتن عملکرد آن ها شوند.<sup>(۲۰)</sup> بنابراین گمان می رود تمرین های ورزشی درمانده ساز و تناوبی با شدت بالا به افزایش تولید گونه های واکنشی اکسیژن منجر می شوند و بدن انسان برای مقابله با این وضعیت ضد اکسیدان های بیش تری را تولید می کند. اگرچه مشخص شده است که متالوتیونین یک عامل ضد اکسایشی مهم و ویژه در قلب است که هنگام ایجاد تنش در قلب انباشته می شود، اما تأثیر فعالیت ورزشی (مدت، شدت و نوع) بر روی آن به خوبی مشخص نشده است. نتایج مطالعه ها نشان داده اند که متالوتیونین در مقایسه با گلو تاتیون تقریباً ۸۰۰ برابر قوی تر است و از آسیب DNA ناشی از گونه های واکنشی اکسیژن حفاظت می کند.<sup>(۲۱)</sup>

به طور کلی اگرچه در پژوهش حاضر افزایش

CIRCRESAHA.111.255216

4. Strobel NA, Fassett RG, Marsh SA, Coombes JS. Oxidative stress biomarkers as predictors of cardiovascular disease. *Int J Cardiol* 2011 Mar 3; 147 (2): 191-201. doi: 10.1016/j.ijcard.2010.08.008.

5. Zalewska M, Trefon J, Milnerowicz H. The role of metallothionein interactions with other proteins. *Proteomics* 2014 Jun; 14 (11): 1343-56. doi: 10.1002/pmic.201300496.

6. Thirumoorthy N, Shyam Sunder A, Manisenthil Kumar K, Senthil Kumar M, Ganesh G, Chatterjee M. A review of metallothionein isoforms and their role in pathophysiology. *World J Surg Oncol* 2011 May 20; 9: 54. doi: 10.1186/1477-7819-9-54.

7. Capdevila M, Atrian S. Metallothionein protein evolution: a miniassay. *J Biol Inorg Chem* 2011 Oct; 16 (7): 977-89. doi: 10.1007/s00775-011-0798-3.

8. Jing L, Li L, Zhao J, Zhao J, Sun Z, Peng S. Zinc - induced metallothionein overexpression prevents doxorubicin toxicity in cardiomyocytes by regulating the peroxiredoxins. *Xenobiotica* 2015 Nov 24: 1-11.

9. Manfred Lamprecht. *Antioxidants in Sport Nutrition*. CRC Press; 2015.

10. Chen S, Zhang J. The protective effects of exhaustive exercise metallothionein in induced by zinc on myocardium in heart of rats. *J BSU* 2008; 2: 17.

11. Podhorska-Okołów M, Dziegiel P, Dolińska-Krajewska B, Dumańska M, Cegielski M, Jethon Z, et al. Expression of metallothionein in renal tubules of rats exposed to acute and endurance exercise. *Folia Histochem Cytobiol* 2006; 44 (3): 195-200.

12. Burniston JG. Adaptation of the rat cardiac proteome in response to intensity -

controlled endurance exercise. *Proteomics* 2009 Jan; 9 (1): 106-15. doi: 10.1002/pmic.200800268.

13. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MØ, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc Res* 2009 Mar 1; 81 (4): 723-32. doi: 10.1093/cvr/cvn332.

14. Høydal MA, Wisløff U, Kemi OJ, Ellingsen Ø. Running speed and maximal oxygen uptake in rats and mice: practical implications for exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007 Dec; 14 (6): 753-60.

15. Yonezawa LA, Barbosa TS, Watanabe MJ, Marinho CL, Knaut JL, Kohayagawa A. Effect of vitamin E on oxidative and cardiac metabolism in horses submitted to high intensity exercise. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2015; 67 (1): 71-9.

16. Jolazadeh T, Dabidiroshan V. Effect of the progressive aerobic and exhaustive training on metallothionein and MDA levels of heart tissue in wistar rats. *Olympic* 2011 Summer; 19 (2): 65-75. [In Persian]

17. Pinto A, Di Raimondo D, Tuttolomondo A, Buttà C, Milio G, Licata G. Effects of physical exercise on inflammatory markers of atherosclerosis. *Curr Pharm Des* 2012; 18 (28): 4326-49.

18. Yang L, Hu N, Jiang S, Zou Y, Yang J, Xiong L, et al. Heavy metal scavenger metallothionein attenuates ER stress-induced myocardial contractile anomalies: role of autophagy. *Toxicol Lett* 2014 Mar 21; 225 (3): 333-41. doi:10.1016/j.toxlet.2013.12.024

19. Jiang S, Guo R, Zhang Y, Zou Y, Ren J. Heavy metal scavenger metallothionein mitigates deep hypothermia - induced

myocardial contractile anomalies: role of autophagy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013 Jan 1; 304 (1): E74-86. doi: 10.1152/ajpendo.00176.2012.

20. MacLaren D, Morton J. *Biochemistry for sport and exercise metabolism*. John Wiley & Sons. 2011.

21. Zhang Y, Li L, Hua Y, Nunn JM, Dong F, Yanagisawa M, Ren J. Cardiac - specific knockout of ET (A) receptor mitigates low ambient temperature - induced cardiac hypertrophy and contractile dysfunction. *J Mol Cell Biol* 2012 Apr; 4 (2): 97-107. doi: 10.1093/jmcb/mjs002.