

## The Effect of Aerobic Exercise Timing, Specifically Contrasting the Light Phase with the Dark Phase, on the Protein Expression Levels of the Inflammatory Marker C3 and Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) in Older Adults' Women Diagnosed with Type 2 Diabetes Mellitus

Zahra Hemati Farsani<sup>1</sup>, Azra Mohammahpanah Ardakan<sup>\*2</sup>, Zahra Heydari<sup>3</sup>, Zahra Raisi Filabadi<sup>4</sup>

1. Department of Sport Physiology, Faculty of Humanities and Social Sciences, Ardakan University, Yazd, Iran

2. Department of psychology, faculty of Humanistic and social sciences, Ardakan University, Yazd, Iran

3. Faculty of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

4. Department of Sport Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

### Abstract

**Background:** Inflammatory protein C3 and IL-1 $\beta$  are significantly involved in the pathophysiology of type 2 diabetes (T2D) and Alzheimer's disease. Moreover, examining the importance of aerobic exercise timing (light vs. dark phase) can provide a better understanding of how exercise timing affects inflammatory markers associated with neurological diseases in older adult women with T2D. Therefore, this study aimed to investigate the effect of aerobic exercise timing on C3 and IL-1 $\beta$  levels in older adults' women with T2D.

**Methods:** In this semi-experimental study, 45 women with T2D with an average age of  $60 \pm 5.07$  years were divided into training groups (light and dark phase) and control (15 people in each group). Aerobic exercise was performed for 12 weeks at a moderate intensity (60-70% of heart rate reserve). Protein levels (C3 and IL-1 $\beta$ ) were measured before and after the intervention using the ELISA method. Data were analyzed using SPSS27 software and ANOVA with a significance level of 0.05.

**Results:** Complement C3 was significantly lower in the dark phase exercise group compared to the control group ( $P=0.0083$ ). Additionally, the results showed that dark phase aerobic exercise significantly decreased C3 ( $P=0.0028$ ) and IL-1 $\beta$  ( $P=0.0045$ ) levels compared to baseline.

**Conclusion:** Aerobic exercise performed during the dark phase effectively reduced inflammatory protein levels of C3 and IL-1 $\beta$  in older adult women with T2D, suggesting it could be considered as a crucial strategy in managing this disease.

**Keywords:** Aerobic exercise, Exercise timing, Older adult women, Type 2 diabetes, Complement C3, IL1 $\beta$

### Please cite this article as:

Hemati Farsani Z, Mohammahpanah Ardakan A, Heydari Z, Raisi Filabadi Z. The Effect of Aerobic Exercise Timing, Specifically Contrasting the Light Phase with the Dark Phase, on the Protein Expression Levels of the Inflammatory Marker C3 and Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) in Older Adults' Women Diagnosed with Type 2 Diabetes Mellitus. *ijdl*. 2025; 25(4):331-340.

**\*Corresponding Author:** Azra Mohammahpanah Ardakan; **Email:** azramohammadpanah@ardakan.ac.ir  
Ardakan, Ayatollah Khatami Boulevard, Ardakan University, Postal Code: 95491-89518, Tel: 035-33900000, Fax: 035-32248384, Mobile: 09137232696

## بررسی اثر زمان بندی تمرینات هوازی، با تمرکز بر مقایسه مرحله های روشنایی و تاریکی، بر میزان بیان پروتئین های نشانگر التهابی C3 و اینترلوکین ۱ بتا (IL-1β) در جمعیت زنان سالمند مبتلا به دیابت نوع دو

زهرا همتی فارسانی<sup>۱</sup>، عذرا محمدپناه اردکان<sup>۲\*</sup>، زهرا حیدری<sup>۳</sup>، زهرا رئیسی فیل آبادی<sup>۴</sup>

۱- گروه علوم ورزشی، دانشکده علوم انسانی و اجتماعی، دانشگاه اردکان، یزد، ایران

۲- گروه روانشناسی، دانشکده علوم انسانی و اجتماعی، دانشگاه اردکان، یزد، ایران

۳- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران

۴- گروه علوم ورزشی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

### چکیده

مقدمه: پروتئین های التهابی کمپلمان C3 و اینترلوکین ۱ بتا (IL-1β) به طور قابل توجهی در آسیب شناسی دیابت نوع دو (T2D) و بیماری آلزایمر دخیل هستند. از طرفی بررسی اهمیت زمان انجام تمرینات هوازی (روشنایی و تاریکی) به درک بهتر چگونگی تأثیر زمان بندی تمرینات بر شاخص های التهابی مرتبط با بیماری های عصبی در زنان مسن مبتلا به T2D کمک می کند لذا این پژوهش درصدد بررسی اثر زمان تمرین هوازی بر عوامل C3 و IL1β در زنان سالمند مبتلا به T2D بود.

روش ها: در این مطالعه نیمه تجربی، ۴۵ زن مبتلا به T2D با میانگین سنی  $60 \pm 5/07$  سال در گروه های تمرین (مرحله روشنایی و تاریکی)، و کنترل (هر گروه ۱۵ نفر) تقسیم شدند. تمرین هوازی به مدت ۱۲ هفته، با شدت متوسط (۶۰ تا ۷۰ درصد ضربان قلب ذخیره) اجرا شد. سطوح پروتئین ها (C3 و IL1β) قبل و بعد از مداخله با روش الیزا اندازه گیری شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS27 و با روش ANOVA تک خطی با سطح معنی داری ۰/۰۵ درصد ارزیابی شدند.

یافته ها: کمپلمان C3 در گروه تمرین هوازی در مرحله تاریکی نسبت به گروه کنترل کاهش داشت ( $P=0/0083$ ). همچنین نتایج نشان داد که تمرین هوازی در مرحله تاریکی منجر به کاهش معنی دار سطوح C3 ( $P=0/0028$ ) و IL-1β ( $P=0/0045$ ) نسبت به پیش آزمون شد. نتیجه گیری: تمرین هوازی در مرحله تاریکی به طور مؤثر سطح پروتئین التهابی C3 و IL-1β را در زنان مسن مبتلا به دیابت نوع ۲ کاهش داد و احتمالاً می تواند به عنوان یک راهبرد مهم در مدیریت این بیماری در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: تمرین هوازی، زمان تمرین، زنان سالمند، دیابت نوع دو، کمپلمان C3، IL1β

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۳

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Hemati Farsani Z, Mohammahpanah Ardakan A, Heydari Z, Raisi Filabadi Z. The Effect of Aerobic Exercise Timing, Specifically Contrasting the Light Phase with the Dark Phase, on the Protein Expression Levels of the Inflammatory Marker C3 and Interleukin 1 Beta (IL-1β) in Older Adults' Women Diagnosed with Type 2 Diabetes Mellitus. *ijldl*. 2025; 25(4):331-340.

\* نویسنده مسئول: عذرا محمدپناه اردکان، آدرس: اردکان، بلوار آیت الله خاتمی، دانشگاه اردکان، کد پستی: ۸۹۵۱۸-۹۵۴۹۱، تلفن: ۰۳۵-۳۳۹۰۰۰۰، نمابر: ۰۳۵-۳۲۲۴۸۳۸۴، موبایل: ۰۹۱۳۷۲۳۲۶۹۶، پست الکترونیک: azramohammadpanah@ardakan.ac.ir

## مقدمه

طی نیم قرن اخیر، شاهد افزایش چشم گیر جمعیت سالمندان و همزمان با آن، شیوع دیابت نوع دو در این گروه سنی بوده ایم. در حال حاضر، تقریباً نیمی از افراد مبتلا به دیابت نوع دو را افراد بالای ۶۵ سال تشکیل می دهند. مدیریت دیابت در سالمندان به دلیل پیچیدگی های متعدد، چالش های قابل توجهی را به همراه دارد. از جمله این چالش ها می توان به ناهمگونی بالینی بیماران، همزمان بودن با سایر بیماری ها، افزایش حساسیت به افت قند خون (هیپوگلیسمی)، نیاز بیشتر به مراقبت های بهداشتی و افزایش ضعف جسمانی اشاره کرد. این عوامل به طور قابل توجهی بر پیچیدگی مدیریت دیابت در سالمندان افزوده و نیاز به رویکردهای درمانی شخصی سازی شده را بیش از پیش نمایان می سازد [۱]. دیابت نوع دو، علاوه بر تأثیرات شناخته شده بر سیستم های قلبی- عروقی و عصبی محیطی، به عنوان یک عامل خطر مستقل برای بیماری آلزایمر مطرح است. زیرا دیابت نوع دو می تواند زمینه را برای التهاب و مقاومت به انسولین در مغز فراهم کند که هر دو به طور مستقیم با بیماری آلزایمر مرتبط هستند. التهاب مزمن و اختلال در عملکرد انسولین در مغز، بستر را برای مرگ سلول های عصبی و زوال تدریجی حافظه و عملکردهای شناختی فراهم می کند [۲]. اگرچه مطالعات در مورد تأثیر احتمالی دیابت نوع دو بر التهاب مغز در بیماری آلزایمر محدود است، اما این احتمال وجود دارد که دیابت نوع دو از طریق آتشبار سیتوکین ها و کموکین ها، فعال شدن میکروگلیا و آسیب التهابی عروقی در مغز بیماران منجر به بیماری آلزایمر می شود [۳].

خانواده اینترلوکین ۱<sup>۱</sup> (IL-1)، گروهی از سیتوکین ها هستند که نقش مرکزی در تنظیم پاسخ های ایمنی و التهابی دارند. دیابت نوع دو به عنوان یک بیماری میانجی گری شده توسط سیستم ایمنی شناخته شده است که منجر به اختلال در سیگنالینگ انسولین و تخریب انتخابی سلول های بتای تولیدکننده انسولین می شود که در آن سیتوکین ها نقش مهمی دارند. اختلال در پاسخ ضد التهابی می تواند یک جزء حیاتی التهاب مزمن باشد که منجر به دیابت نوع دو می شود. خانواده سیتوکین های IL-1 به ویژه اینترلوکین ۱ بتا<sup>۲</sup> (IL-1β)، نقش مهمی در غدد درون ریز و در تنظیم پاسخ های مرتبط با استرس التهابی دارند [۴]. از طرفی، سیتوکین های پیش التهابی مانند IL-1β نقش دوگانه ای در فرآیندهای نورودژنراسیون و محافظت عصبی دارند. افزایش سیگنالینگ التهابی از طریق IL-1β منجر به آزادسازی واسطه های ایمنی

می شود که بر عملکرد نورون ها تأثیر منفی گذاشته و باعث مرگ سلولی می شوند. در مقابل، ضعف سیستم های ضد التهابی به تشدید التهاب عصبی و پیشرفت بیماری آلزایمر کمک می کند. مطالعات نشان داده اند که IL-1β با فعال سازی میکروگلیا و آستروسیت ها، التهاب را در مغز افزایش داده و باعث پیشرفت بیشتر آسیب های عصبی مرتبط با آلزایمر می شود. بنابراین، هدف قرار دادن مسیرهای مولکولی و سیتوکین های التهابی مانند IL-1β می تواند به عنوان یک راهبرد درمانی مؤثر برای کاهش التهاب عصبی و کاهش سرعت پیشرفت آلزایمر مطرح باشد [۵].

علاوه بر این، شواهد نشان می دهند که سیستم کمپلمان نقش اساسی در اکثر عوارض ناشی از دیابت ایفا می کند. سیستم کمپلمان یک جزء مرکزی ایمنی ذاتی است و با حذف میکروب های عفونی، بقایای سلولی، تکمیل فرآیندهای ایمنی و التهابی و ارسال سیگنال های «خطر»، به طور قابل توجهی به هموستاز کمک می کند. سیستم کمپلمان در ابتدا به عنوان یک خط دفاعی اولیه حمایتی در برابر مهاجمان میکروبی تلقی می شد؛ با این حال، پژوهش ها در دهه گذشته دریافته اند که عملکردهای سیستم کمپلمان فراتر از دفاع و حذف میکروب ها گسترش می یابد و در فرآیندهای متنوعی مانند پاکسازی کمپلکس های ایمنی، بسیج سلول های بنیادی هماتوپوئیتیک، بازسازی بافت، بلوغ سیناپس، آنژیوژنز و متابولیسم لیپیدها شرکت می کند [۶]. تحقیقات گسترده، ارتباط قوی بین سیستم کمپلمان و مقاومت به انسولین، اختلال عملکرد سلول های بتای لوزالمعده و عوارض عروقی دیابتی را تأیید کرده اند. علاوه بر این، شواهد نشان می دهند که سیستم کمپلمان با سیستم عصبی مرکزی نیز تعامل پیچیده ای دارد. فعال سازی نامتعادل یا بیش از حد سیستم کمپلمان می تواند منجر به طیف وسیعی از اختلالات نورولوژیکی، از جمله اختلالات روانی (مانند افسردگی و اسکیزوفرنی)، اختلالات نورودژنراتیو (مانند بیماری آلزایمر و پارکینسون) و اختلالات رشد عصبی شود. درمان های کمپلمان می تواند یکی از مسیرهای ممکن برای کند کردن عوارض دیابتی باشد [۷].

اما خبر امیدوارکننده این است که با کنترل دیابت نوع دو می توان خطر ابتلا به بیماری آلزایمر را به طور قابل ملاحظه ای کاهش داد. این امر از طریق اتخاذ یک سبک زندگی سالم و پایدار، که شامل رژیم غذایی متعادل، فعالیت ورزشی منظم و حفظ وزن ایده آل می شود، قابل دستیابی است [۲]. یکی از مهم ترین این عوامل فعالیت ورزشی است. زیرا فعالیت ورزشی منظم با تقویت شاخص های آنتی اکسیدانی، کاهش استرس اکسیداتیو و اثرات ضد التهابی، می تواند خطر ابتلا به بیماری های تحلیل برنده عصبی

<sup>1</sup> Interleukin-1<sup>2</sup> Interleukin-1β

را در بیماران دیابتی کاهش دهد [۸]. توجه به این اثرات مفید، گنجاندن تمرینات ورزشی منظم در برنامه‌های پیشگیری برای بیماران دیابتی، به‌منظور کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های تحلیل برنده عصبی در این گروه خاص از بیماران، بسیار ضروری است. ثابت شده است که فعالیت ورزشی هوازی به‌عنوان یک راهبرد مؤثر برای بهبود سلامت متابولیک، به‌ویژه در افراد مبتلا به دیابت، شناخته شده است [۹].

نکته بعدی که جای بررسی بیشتری دارد آن است که زمان انجام فعالیت ورزشی با توجه به نوسان‌های ژنی که در سلول‌ها اتفاق می‌افتد، آثار گوناگونی بر سوخت‌وساز سلولی و ظرفیت انجام فعالیت ورزشی در دو زمان اوایل روشنایی و اوایل تاریکی دارد. که در این دو مرحله سوخت‌وساز بدن، به‌دلیل تأثیرگذاری نور، تغذیه و فعالیت سلولی، با یکدیگر فرق می‌کند. پیام‌هایی که باعث تنظیمات ساعت بیولوژیک می‌شوند به‌عنوان همگام‌سازهای زمانی<sup>۱</sup> شناخته می‌شوند. پژوهش‌ها نشان می‌دهند زمان فعالیت ورزشی تأثیر سوخت‌وسازی تمرین را تقویت می‌کند [۱۰] و ظرفیت تمرین استقامتی در زمان‌های گوناگون روز متفاوت است و در اوایل مرحله تاریکی نسبت به اوایل مرحله روشنایی اختلاف بارزی دارد [۱۱].

با وجود شواهد مبنی بر تأثیر زمان بندی تمرین بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی بدن، هنوز پرسش اساسی در خصوص زمان بهینه انجام فعالیت ورزشی برای به حداکثر رساندن فواید آن، به‌ویژه در جمعیت‌های خاص مانند زنان سالمند مبتلا به دیابت نوع دو، به‌طور کامل پاسخ داده نشده است. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که زمان انجام تمرین می‌تواند بر متغیرهای مختلف فیزیولوژیکی، از جمله پاسخ التهابی، تأثیرات متفاوتی داشته باشد. در این راستا، پژوهش حاضر با هدف تعیین زمان بهینه تمرین هوازی (صبح یا عصر) برای کاهش سطوح سیتوکین‌های التهابی کمپلمان C3 و IL-1β در زنان سالمند مبتلا به دیابت نوع دو طراحی شده است.

## روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع نیمه‌تجربی از نوع طراحی گروه کنترل غیرمعادل با پیش آزمون و پس‌آزمون به همراه گروه کنترل و از لحاظ هدف از نوع تحقیقات کاربردی و توسعه‌ای است که به شیوه آزمایشگاهی انجام شد. جامعه آماری مطالعه، کلیه زنان مبتلا به دیابت نوع دو با میانگین سنی  $50/07 \pm 60$  سال مراجعه کننده به انجمن دیابت شهرکرد در سال ۱۴۰۲ بودند. نمونه‌گیری به روش

<sup>1</sup> Zeitgebers

در دسترس از بین زنان واجد شرایط (تشخیص دیابت نوع دو توسط پزشک،  $HbA1c \leq 7/5$  درصد، قند خون ناشتا  $\leq 126$  میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) انجام شد. معیارهای ورود شامل، ابتلا به دیابت نوع دو به مدت بیش از پنج سال، عدم ابتلا به بیماری خاصی که با انجام تمرینات ورزشی منافات داشته باشد، عدم ابتلا به افسردگی شدید با توجه به تأثیر تغییرات خلقی و افسردگی در آزمون‌های حافظه، به همین منظور از آزمودنی‌ها، آزمون افسردگی (بک) گرفته شد و افرادی با نمره بیشتر از ۱۳، وارد مطالعه نشدند (نمره بیشتر از ۱۳ نشانه افسردگی است و همچنین سبک زندگی کم‌تحرک و توانایی انجام حرکات ورزشی بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل آسیب دیدگی و ناتوانی در انجام برنامه‌های تمرینی بود. در این مطالعه، حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار G\*Power محاسبه شد. با در نظر گرفتن سطح معناداری ۰/۰۵، توان آزمون ۸۰٪ و برآورد اندازه اثر ۰/۵۳، حجم نمونه مورد نیاز برای هر گروه ۱۳ نفر تعیین شد. با این حال، به‌منظور جبران احتمال ریزش نمونه، حجم نمونه به ۱۵ نفر در هر گروه افزایش یافت.

همه آزمودنی‌ها قبل از ورود به مطالعه، فرم رضایت‌نامه کتبی و همکاری در تحقیق را تکمیل کردند. قبل و بعد از دوره تمرینی، از تمام شرکت‌کنندگان آزمایش خون گرفته شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه یزد (ID: IR.YAZD.REC.1402.044) تأیید و با شناسه IRCT20181212041935N1 در دفتر ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایران (IRCT) ثبت شد.

## برنامه تمرین هوازی

گروه‌های تمرینی در دو ساعت متمایز از روز تمرین کردند؛ برای تعیین زمان تمرین روز، از پژوهش Sato و همکاران (۲۰۱۹) استفاده شد، بدین صورت که زمان شروع روشنایی ساعت ۶ صبح و زمان شروع تاریکی ساعت ۶ عصر در نظر گرفته شد و زمان تمرین سه ساعت پس از شروع روشنایی در ساعت ۹ صبح و سه ساعت پس از شروع تاریکی یعنی در ساعت ۹ شب در نظر گرفته شد [۱۰]. شرکت‌کنندگان در یک برنامه تمرینی هوازی ۱۲ هفته‌ای با شدت متوسط (۶۰-۷۰ درصد ضربان قلب ذخیره) شرکت کردند. این برنامه شامل سه جلسه تمرین در هفته، هر جلسه به مدت ۵۰ دقیقه بود. هر جلسه با ۵ دقیقه گرم کردن دینامیک آغاز و با ۵ دقیقه سرد کردن استاتیک به پایان می‌رسید. بخش اصلی تمرین، ۳۰ دقیقه پیاده‌روی سریع با شدت ۶۰-۷۰

$$\text{Body Fat Percentage} = (495 / \text{Density}) - 450 \quad [13]$$

### روش آماری

محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS-27 انجام شد. توزیع نرمال متغیرهای کمی با استفاده از آزمون آزمون شاپیرو-ویلک و برای اطمینان از همگنی واریانس گروه ها، آزمون لون ارزیابی شد. سپس برای بررسی تفاوت بین میانگین های مختلف از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد (آزمون تعقیبی بونفرونی). تمامی اطلاعات تجربی به صورت میانگین  $\pm$  انحراف از میانگین ارائه شدند. سطح معنی داری برای همه آزمون ها ۰/۰۵ تعیین شد. جهت ترسیم نمودارها از نرم افزار گراف پد پریم نسخه ۹ استفاده شده است.

### یافته ها

یافته های توصیفی شامل شاخص های آماری میانگین و انحراف معیار متغیرهای دموگرافیک شامل شاخص BMI، قند خون و درصد چربی و IL-1 $\beta$  و C3 در سه گروه تمرین صبح، تمرین عصر و کنترل در جدول ۱ ارائه شده است.

بر اساس جداول ANOVA یک طرفه و آزمون مقایسه های چندگانه بونفرونی، تفسیر نتایج به این صورت است:

در مورد متغیر متغیر وابسته IL-1 $\beta$  تعامل بین گروه ها و زمان (گروه ها \* زمان) معنی دار نبود ( $P=0/3399$ ). این به این معناست که اثر زمان بر متغیر وابسته IL-1 $\beta$  در گروه های مختلف به طور یکسان عمل می کند و تفاوت چشم گیری بین تأثیر زمان در گروه ها مشاهده نشده است. همچنین نتایج نشان داده شد که تفاوت معنی داری بین گروه ها وجود ندارد ( $P=0/2093$ ) این بدان معنی است که میانگین متغیر وابسته IL-1 $\beta$  در هیچ یک از گروه ها با بقیه متفاوت نیست. تفاوت معنی داری بین زمان های مختلف مشاهده شد ( $P=0/0003$ )، به این معنا که میانگین سطح IL-1 $\beta$  در طول زمان تغییر کرده است. این نشان می دهد که زمان به عنوان یک متغیر مستقل بر متغیر وابسته تأثیرگذار بوده است.

آزمون مقایسه های چندگانه بونفرونی نتایج نشان می دهد که میانگین گروه تمرین هوازی در مرحله تاریکی پس از مداخله به طور معنی داری کمتر از قبل مداخله است ( $P=0/0045$ ). همچنین نتایج نشان می دهد که میانگین گروه تمرین هوازی در مرحله روشنایی ( $P=0/0644$ ) و گروه کنترل ( $P=0/2209$ ) پس از مداخله و قبل از مداخله تفاوت معنی داری نداشتند (شکل ۱).

درصد ضربان قلب ذخیره (HRR) بود که ضربان قلب ذخیره = شدت فعالیت  $\times$  (ضربان قلب استراحت + [۲۲۰ - سن] - ضربان قلب استراحت) با استفاده از دستگاه ضربان سنج کنترل می شد [۱۲].

### بررسی متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی

برای بررسی متغیرهای بیوشیمیایی، خون گیری به صورت ناشتا قبل و بعد از ۱۲ هفته مداخله تمرینی انجام خواهد شد. از همه آزمودنی ها خواسته شد که ۴۸ ساعت قبل از خون گیری اولیه، هیچ گونه فعالیت ورزشی انجام ندهند. خون گیری متعاقب ۱۲ - ۱۰ ساعت ناشتایی شبانه و از طریق ورید بازویی به مقدار پنج میلی لیتر انجام شد. نمونه های خونی بین ساعات ۸ الی ۱۰ صبح جمع آوری شد. برای اندازه گیری متغیر C3 (شماره کیت: SLD023Hu، حساسیت: ۴/۶۹ نانوگرم بر میلی لیتر) و IL-1 $\beta$  (شماره کیت: SLD0 1Hu، حساسیت ۱ پیکوگرم بر میلی لیتر) در نمونه های انسانی، از کیت الایزا (ELISA) استفاده شد که شامل مراحل زیر است: نمونه خون کامل به منظور جداسازی پلاسما، در لوله های حاوی ضد انعقاد جمع آوری و پس از ۱۰ تا ۲۰ دقیقه ماندن در دمای محیط، سانتریفیوژ شد. سپس C3 و IL-1 $\beta$  صفحات میکروالایزا از پیش با آنتی بادی خاصی پوشش داده شدند. نمونه ها و استانداردهای C3 و IL-1 $\beta$  به چاهک های صفحه اضافه شدند. آنتی بادی کونزوگه با  $HRP^2$  به چاهک ها اضافه شد و پس از انکوباسیون، اجزای آزاد شسته شدند. پس از شستشو، محلول  $TMB^3$  اضافه شد که باعث ایجاد رنگ آبی شد. سپس محلول متوقف کننده اضافه شد که رنگ را به زرد تبدیل کرد. جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه گیری شد. غلظت های استاندارد C3 و IL-1 $\beta$  و مقدار  $OD^4$  مربوط به آنها رسم شد. غلظت C3 و IL-1 $\beta$  در نمونه ها با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شده و با ضرب در فاکتور رقیق سازی، غلظت اصلی تعیین شد. قند خون ناشتا با استفاده از کیت پارس آزمون (Iran, Tehran, Azmoon Pars)، به روش گلوکز اکسیداز (Hitachi®, model 704, 902 made in Japan) و قد و وزن (ترازوی قد و وزن دیجیتال سکا با دقت ۵۰ گرم) اندازه گیری شد. لازم به ذکر است آماره نمایه توده بدنی ( $BMI^5$ ) و درصد چربی از روابط زیر به دست آمده است:

$$BMI = \text{Weight (kg)} / \text{Height (m)}$$

<sup>1</sup> Heart Rate Reserve

<sup>2</sup> Horseradish Peroxidase

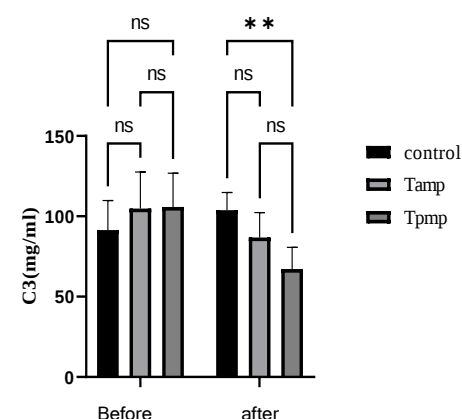
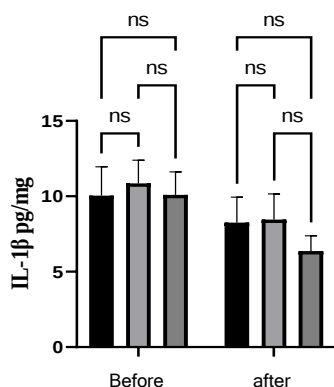
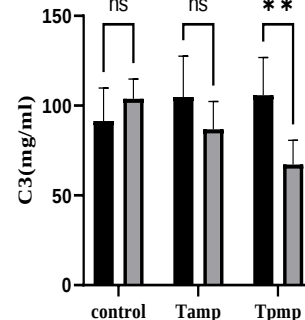
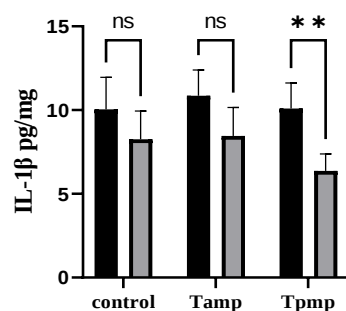
<sup>3</sup> 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine

<sup>4</sup> Optical Density

<sup>5</sup> Body mass index

جدول ۱- آماره‌های پیش‌آزمون و پس‌آزمون عوامل خونی، BMI، قند خون و درصد چربی در گروه‌های آزمایشی تمرین صبح و عصر و گروه کنترل

| متغیر                                 | آزمون     |         |              | پیش‌آزمون |         |              | پس‌آزمون |         |              |
|---------------------------------------|-----------|---------|--------------|-----------|---------|--------------|----------|---------|--------------|
|                                       | گروه      | میانگین | انحراف معیار | تعداد     | میانگین | انحراف معیار | تعداد    | میانگین | انحراف معیار |
| نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع) | تمرین صبح | ۳۱/۵۵   | ۳/۶۹         | ۱۵        | ۳۰/۳۲   | ۳/۳۵         | ۱۵       | ۳۰/۳۲   | ۳/۳۵         |
|                                       | تمرین عصر | ۳۰/۱۱   | ۴/۸۸         | ۱۵        | ۲۹/۵۴   | ۴/۵۷         | ۱۵       | ۲۹/۵۴   | ۴/۵۷         |
|                                       | کنترل     | ۲۹/۲۱   | ۴/۰۰         | ۱۵        | ۲۹/۴۳   | ۳/۹۳         | ۱۵       | ۲۹/۴۳   | ۳/۹۳         |
| قند خون (میلی گرم بر دسی لیتر)        | تمرین صبح | ۱۷۹/۸۵  | ۴۵/۵۸        | ۱۵        | ۱۴۳/۸۵  | ۳۶/۶۷        | ۱۵       | ۱۴۳/۸۵  | ۳۶/۶۷        |
|                                       | تمرین عصر | ۱۵۱/۹۲  | ۴۹/۱۵        | ۱۵        | ۱۲۷/۱۴  | ۲۶/۶۷        | ۱۵       | ۱۲۷/۱۴  | ۲۶/۶۷        |
|                                       | کنترل     | ۱۵۱/۹۰  | ۱۷/۸۹        | ۱۵        | ۱۵۹/۴۰  | ۲۶/۸۴        | ۱۵       | ۱۵۹/۴۰  | ۲۶/۸۴        |
| درصد چربی                             | تمرین صبح | ۲۵/۶۸   | ۴/۷۷         | ۱۵        | ۲۵/۳۵   | ۴/۴۰         | ۱۵       | ۲۵/۳۵   | ۴/۴۰         |
|                                       | تمرین عصر | ۲۸/۰۳   | ۳/۹۹         | ۱۵        | ۲۶/۸۸   | ۳/۸۶         | ۱۵       | ۲۶/۸۸   | ۳/۸۶         |
|                                       | کنترل     | ۲۷/۱۵   | ۲/۷۱         | ۱۵        | ۲۷/۲۱   | ۲/۶۹         | ۱۵       | ۲۷/۲۱   | ۲/۶۹         |
| IL1 $\beta$ (پیکوگرم بر میلی گرم)     | تمرین صبح | ۱۰/۸۶   | ۱/۵۳         | ۱۵        | ۸/۴۵    | ۱/۶۹         | ۱۵       | ۸/۴۵    | ۱/۶۹         |
|                                       | تمرین عصر | ۱۰/۰۹   | ۱/۵۲         | ۱۵        | ۶/۳۶    | ۱/۰۱         | ۱۵       | ۶/۳۶    | ۱/۰۱         |
|                                       | کنترل     | ۱۰/۰۴   | ۱/۹          | ۱۵        | ۸/۲۶    | ۱/۶۷         | ۱۵       | ۸/۲۶    | ۱/۶۷         |
| C3 (میلی گرم بر میلی لیتر)            | تمرین صبح | ۱۰۴/۸۶  | ۲۲/۶۷        | ۱۵        | ۸۶/۷۷   | ۱۵/۶۰        | ۱۵       | ۸۶/۷۷   | ۱۵/۶۰        |
|                                       | تمرین عصر | ۱۰۵/۸۳  | ۲۱/۰۲        | ۱۵        | ۶۷/۱۵   | ۱۳/۴۸        | ۱۵       | ۶۷/۱۵   | ۱۳/۴۸        |
|                                       | کنترل     | ۹۱/۴۶   | ۱۸/۴۰        | ۱۵        | ۱۰۳/۸۳  | ۱۰/۹۷        | ۱۵       | ۱۰۳/۸۳  | ۱۰/۹۷        |



شکل ۱- سطوح پروتئین‌ها در پلاسمای خون زنان سالمند دیابتی

این مطالعه شامل سه گروه بود: گروه کنترل دیابتی (شاهد)، گروهی که فعالیت فعالیت ورزشی هوازی در مرحله روشنایی<sup>۱</sup> (Tamp) و گروهی که فعالیت ورزشی هوازی در مرحله تاریکی انجام می‌دادند<sup>۲</sup> (Tpmp). مقادیر  $P < 0/05$  از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های مختلف با مقادیر \*\* و \*\*\*، به ترتیب با سطوح معنی‌داری  $P < 0/05$  و  $P \leq 0/01$  نشان داده شد. 'ns' نشان دهنده فقدان معناداری آماری بین گروه‌ها است.

<sup>۱</sup> Training ante meridiem Protocol

<sup>۲</sup> Training post meridiem Protocol

در مورد متغیر متغیر وابسته C3 تعامل بین گروه‌ها و زمان (گروه‌ها \* زمان) معنی دار نبود ( $P = 0/0139$ ). این به این معناست که اثر زمان بر متغیر وابسته C3 در گروه‌های مختلف به طور یکسان عمل نمی‌کند و تفاوت چشم‌گیری بین تأثیر زمان در گروه‌ها مشاهده شده است. تفاوت معنی داری بین گروه‌ها وجود ندارد ( $P = 0/3882$ ) این بدان معنی است که میانگین متغیر وابسته C3 در هیچ‌یک از گروه‌ها با بقیه متفاوت نیست. تفاوت معنی داری بین زمان‌ها وجود داشت ( $P = 0/0283$ ). نشان دهنده این است که تفاوت معنی داری بین زمان‌های مختلف وجود دارد، یعنی میانگین C3 در زمان‌های مختلف تغییر کرده است. این نشان می‌دهد که زمان به عنوان یک متغیر مستقل بر متغیر وابسته تأثیرگذار بوده است. آزمون مقایسه‌های چندگانه بونفرونی نتایج نشان می‌دهد که میانگین گروه تمرین هوازی در مرحله تاریکی پس از مداخله به طور معنی داری کمتر از قبل مداخله است ( $P = 0/0082$ ). همچنین نتایج نشان می‌دهد که میانگین گروه تمرین هوازی در مرحله روشنایی ( $P = 0/3123$ ) و گروه کنترل ( $P = 0/7567$ ) پس از مداخله و قبل از مداخله تفاوت معنی داری نداشتند (شکل ۱).

## بحث

از نتایج مهم این پژوهش کاهش کمپلمان C3 در گروه تمرین هوازی در مرحله تاریکی نسبت به گروه کنترل بود و تفاوت آماری در پیش‌آزمون و پس‌آزمون در گروه تمرین هوازی در مرحله تاریکی مشاهده شد. در تفسیر این نتیجه می‌توان ذکر کرد که تمرینات هوازی در مرحله تاریکی می‌تواند باعث کاهش التهاب در بدن شوند. کمپلمان C3 یکی از اجزای سیستم ایمنی است که در پاسخ‌های التهابی نقش دارد. کاهش C3 ممکن است نشان‌دهنده کاهش التهاب به دلیل تمرینات هوازی باشد [۱۴، ۱۵]. همچنین فعالیت ورزشی منظم می‌تواند باعث تعدیل و تنظیم سیستم ایمنی شود. این تعدیل ممکن است به کاهش تولید یا فعالیت کمپلمان C3 منجر شود، که می‌تواند به بهبود عملکرد سیستم ایمنی کمک کند [۱۶] البته اثر فعالیت بدنی بر سیستم ایمنی پیچیده و چندوجهی است و تحت تأثیر سازکارهای مختلفی از جمله تغییرات هورمونی، متابولیک و روانی-عصبی واسطه می‌شوند و احتمالاً علت ایجاد تفاوت در گروه تمرین هوازی در مرحله تاریکی است. در این مطالعه از فعالیت هوازی با شدت متوسط استفاده گردید و در پژوهش‌های قبلی عنوان شده است که فعالیت

بدنی کوتاه مدت با شدت کم تا متوسط (کمتر از  $VO_{2max}$  ۷۰٪) می‌تواند با تعدیل پاسخ ایمنی و افزایش عملکرد سیستم ایمنی، به نفع ورزشکاران عمل کند. این امر از طریق سازکارهایی مانند افزایش گردش خون، فعال شدن سلول‌های ایمنی و آزاد شدن عوامل ضد التهابی رخ می‌دهد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که فعالیت بدنی منظم با شدت کم تا متوسط می‌تواند خطر ابتلا به عفونت‌ها را کاهش دهد و به بهبود عملکرد سیستم ایمنی در برابر بیماری‌های مختلف کمک کند. در مقابل، فعالیت ورزشی استقامتی با شدت بالا (بیشتر از  $VO_{2max}$  ۷۰٪) می‌تواند تأثیرات منفی بر سیستم ایمنی ورزشکاران داشته باشد. این امر به دلیل استرس فیزیولوژیکی ناشی از فعالیت ورزشی شدید است که می‌تواند منجر به سرکوب موقتی سیستم ایمنی شود [۱۷].

از طرفی تمرینات هوازی می‌تواند استرس اکسیداتیو را کاهش دهند. فعالیت ورزشی از طریق تقویت سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن و تعدیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۲</sup> (ROS) به کاهش استرس اکسیداتیو کمک می‌کند؛ فعالیت بدنی منظم با تحریک تولید آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز<sup>۳</sup> (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز، به خنثی‌سازی ROS و حفظ هموستاز ردوکس می‌پردازد [۱۸]. همچنین، استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت ورزشی می‌تواند با تحریک پاسخ‌های تطبیقی، مقاومت بدن در برابر آسیب اکسیداتیو را افزایش دهد. این امر از طریق تقویت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پاسخ‌های تطبیقی، نقش وزیکول‌های خارج سلولی و اثرات ضد التهابی صورت می‌گیرد؛ به طوری که ورزش فعالیت کاتالاز را افزایش داده و سطح سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را نیز بالا می‌برد، استرس اکسیداتیو ناشی از فعالیت ورزشی به عنوان یک استرسور خفیف عمل کرده و پاسخ‌های تطبیقی را تحریک می‌کند، انتشار وزیکول‌های خارج سلولی را تقویت کرده و نشانگرهای پیش التهابی را کاهش می‌دهد. با این حال، باید توجه داشت که شدت و مدت فعالیت ورزشی می‌تواند بر تولید ROS تأثیر بگذارد و فعالیت ورزشی شدید یا طولانی مدت ممکن است به طور موقت سطح ROS را افزایش دهد، اما فعالیت ورزشی منظم و متوسط به طور کلی در تقویت دفاع‌های آنتی‌اکسیدانی و ارتقای سلامت کلی مؤثر است [۱۹، ۲۰]. استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث

<sup>1</sup> Maximal Oxygen Consumption

<sup>2</sup> Reactive Oxygen Species

<sup>3</sup> Superoxide Dismutase

در بالا باشد.

از دیگر نتایج پژوهش حاضر عدم ایجاد تفاوت معنادار در IL-1 $\beta$  بین گروه های تمرینی هوازی صبح و عصر و گروه کنترل بود. هر چند گروهی که در مرحله تاریکی تمرین می کردند، در مقایسه با گروه کنترل و گروه تمرین در مرحله روشنایی، کاهش معنی داری در سطح IL-1 $\beta$  را نشان دادند. سطح سیتو کین التهابی IL-1 $\beta$  در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو در مقایسه با افراد سالم افزایش نشان می دهد التهاب مزمن با درجه پایین یکی از مشخصه های دیابت نوع دو است و IL-1 $\beta$  یک سایتوکین پیش التهابی کلیدی است که در این فرآیند دخیل است. سطوح بالای IL-1 $\beta$  در گردش خون و بافت افراد مبتلا به دیابت نوع دو مشاهده شده است که به مقاومت به انسولین، اختلال در ترشح انسولین و اختلال عملکرد سلول های بتا منجر می شود [۳۲-۳۴]. فعالیت ورزشی منظم می تواند به کاهش سطح IL-1 $\beta$  و کاهش التهاب ناشی از IL-1 $\beta$  در افراد مبتلا به دیابت نوع دو کمک کند و به بهبود کنترل متابولیک و کاهش خطر عوارض دیابت کمک کند [۳۵]. فعالیت ورزش منظم یک اقدام متقابل در برابر خطرات متابولیک است که فعالیت ورزشی در مرحله تاریکی در مقایسه با فعالیت ورزشی در مرحله روشنایی اثرات بهتری دارد. سیستم شبانه روزی بدن فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی، از جمله پاسخ های ایمنی را تنظیم می کند. فعالیت ورزشی در مرحله تاریکی با کاهش طبیعی نشانگرهای التهابی هماهنگ است و اثرات ضد التهابی فعالیت بدنی را افزایش می دهد همچنین فعالیت ورزشی در مرحله تاریکی ممکن است به دلیل تأثیر بر ریتم های شبانه روزی بدن، الگوهای ترشح هورمون هایی مانند کورتیزول و هورمون رشد را به گونه ای تعدیل کند که منجر به بهبود پاسخ های التهابی شود [۳۶]. علاوه بر این، فعالیت ورزشی همچنین می تواند زمان بندی سیستم شبانه روزی را بازنشانی کند، که این احتمال را افزایش می دهد که از زمان مناسب ورزش برای مقابله با اختلالات شبانه روزی استفاده شود IL-1 $\beta$  یک سیتوکین التهابی است که توسط سلول های مختلف سیستم ایمنی، به خصوص ماکروفاژها، مونوسیت ها و سلول های دندریتیک ترشح می شود. در این مطالعه، سطوح IL-1 $\beta$  فقط در سرم خون اندازه گیری شد. با این حال، ممکن است سطوح IL-1 $\beta$  در محل التهاب (مانند عضلات درگیر در تمرین) به طور قابل توجهی متفاوت از سطوح موجود در سرم باشد. عدم بررسی سطوح IL-1 $\beta$  در بافت های مرتبط با فعالیت ورزشی می تواند به عدم مشاهده تفاوت معنادار در گروه های تمرینی نسبت به گروه کنترل نقش

افزایش تولید کمپلمان C3 شود، بنابراین کاهش استرس اکسیداتیو ممکن است به کاهش سطح C3 منجر شود [۲۲، ۲۱]. که با نتایج Ramanjaneya و همکاران (۲۰۲۲)، Kostrzewa-Nowak و همکاران (۲۰۲۰) و Rodriguez (۲۰۲۲) همخوان بود [۱۶، ۲۳، ۲۴]. همچنین در این پژوهش مشاهده شد بر روی پروتئین C3 تمرین در مرحله تاریکی مؤثرتر از تمرین در مرحله روشنایی بود و علت این کاهش معنادار را این طور می شود بیان کرد که تمرین در زمان های مختلف روز می تواند تأثیرات متفاوتی بر سیستم ایمنی بدن داشته باشد و این تفاوت ها ممکن است به دلیل تغییرات هورمونی و فیزیولوژیکی بدن در طول روز باشد. ثابت شده است که پروتئین های ریتم شبانه روزی مانند BMAL1<sup>۱</sup> و CLOCK<sup>۲</sup> با تنظیم تولید سیتوکین ها، سیستم کمپلمان و لکوسیت ها، نقش حیاتی در ایمنی ذاتی ایفا می کنند و با تأثیر بر عملکرد سلول های T، خانه گزینی سلول های دندریتیک و زمان بندی واکسیناسیون، ایمنی اکتسابی را نیز تحت تأثیر قرار می دهند؛ این پروتئین ها از طریق سازکارهای مولکولی نظیر کنترل رونویسی، تنظیم اپی ژنتیک و حسگر پاتوژن، پاسخ های ایمنی را هماهنگ کرده و از التهاب بیش از حد جلوگیری می کنند، و اختلال در ریتم های شبانه روزی می تواند منجر به التهاب سیستمیک، افزایش حساسیت به عفونت و اختلالات خودایمنی شود که بر اهمیت زمان بندی در مداخلات ایمنی تأکید می کند [۲۵، ۲۶].

در این زمینه، چندین مطالعه نشان داده اند که ریتم شبانه روزی بدن می تواند بر عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی تأثیر بگذارد. هورمون هایی مانند کورتیزول که نقش مهمی در پاسخ های استرسی و التهابی دارند، در طول روز تغییر می کنند. کورتیزول به طور معمول در صبح به اوج خود می رسد و در طول روز کاهش می یابد. این تغییرات می توانند بر سیستم ایمنی و سطح کمپلمان C3 تأثیر بگذارند [۲۷، ۲۸].

این مطالعه با پژوهش Córdova و همکاران (۲۰۱۰)، Reis و همکاران (۲۰۱۱) و Lung و همکاران (۲۰۱۸) همخوان نبود [۲۹-۳۱]. از علل ناهمخوانی می توان آزمودنی ها متفاوت (سن، سطح آمادگی جسمانی و وضعیت سلامت)، تفاوت در دستورالعمل های تمرینی (نوع، شدت و مدت تمرین) و تفاوت در روش اندازه گیری متغیر (زمان نمونه گیری خون و روش اندازه گیری) پژوهش حاضر با پژوهش های اشاره شده

<sup>1</sup> Brain and Muscle ARNT-Like 1

<sup>2</sup> Circadian Locomotor Output Cycles Kaput

داشته باشد [۳۷].

ارائه نتایج دقیق تر و جامع تری کمک کنند. ولی با توجه به یافته های این مطالعه، پیشنهاد می شود که احتمالاً تمرینات هوازی در عصر می تواند یک راهبرد مفید برای کاهش التهاب و بهبود سلامت متابولیک ( $IL-1\beta$  و C3) در افراد مسن مبتلا به دیابت نوع دو باشد. افراد مبتلا به این بیماری می توانند با مشورت با پزشک خود برنامه تمرینی مناسب با نیازها و توانایی های خود را دریافت کنند.

### تعارض منافع

مؤلفان اظهار می کنند که منافع متقابلی از تألیف و انتشار این مقاله وجود ندارند.

### سپاسگزاری

از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور<sup>۱</sup> (INSF) که با حمایت مالی خود امکان انجام این پژوهش را فراهم نمود، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

<sup>1</sup> Iran National Science Foundation

پژوهش حاضر، با وجود یافته های قابل توجه، به دلیل محدودیت های ذاتی در طراحی مطالعه، نیازمند تفسیر دقیق و احتیاط آمیز است. یکی از مهم ترین محدودیت ها، حجم نمونه نسبتاً کم است که می تواند بر قدرت آماری مطالعه و تعمیم پذیری نتایج به جمعیت بزرگ تر تأثیر بگذارد. همچنین، تمرکز پژوهش بر تمرینات هوازی با شدت متوسط و مدت زمان ۱۲ هفته، محدودیت هایی را در تعمیم نتایج به انواع دیگر تمرین و تأثیرات بلندمدت ایجاد می کند. علاوه بر این، اندازه گیری محدود به دو پروتئین التهابی، از جامعیت نتایج کاسته و درک عمیق تری از سازکارهای مولکولی را می طلبد. با وجود نتایج حاصل از پژوهش حاضر، ضرورت انجام مطالعات آتی با طراحی های آزمایشی جامع تر، شامل اعمال انواع تمرینات ورزشی متنوع و افزایش حجم نمونه، جهت دستیابی به درک عمیق تر از تأثیر زمان بندی تمرینات ورزشی بر پاسخ های التهابی در جمعیت افراد مبتلا به دیابت نوع دو، مورد تأکید قرار می گیرد. مطالعات آتی می توانند با بررسی انواع مختلف تمرین، مدت زمان های طولانی تر، اندازه گیری طیف وسیعی از بیومارکرها و در نظر گرفتن تفاوت های فردی، به

### References

- Bellary S, Kyrou I, Brown JE, Bailey CJ. Type 2 diabetes mellitus in older adults: clinical considerations and management. *Nature Reviews Endocrinology*. 2021;17(9):534-48.
- Tarhan M, Hartl T, Shchyglo O, Colitti-Klausnitzer J, Kuhl A, Breuer TM, et al. Changes in hippocampal volume, synaptic plasticity and amylin sensitivity in an animal model of type 2 diabetes are associated with increased vulnerability to amyloid-beta in advancing age. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2024; 16:1373477.
- Lue L-F, Andrade C, Sabbagh M, Walker D. Is there inflammatory synergy in type II diabetes mellitus and Alzheimer's disease? *International journal of Alzheimer's disease*. 2012; 2012(1):918680.
- Banerjee M, Saxena M. Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: role in type 2 diabetes. *Clinica chimica acta*. 2012;413(15-16):1163-70.
- Thakur S, Dhapola R, Sarma P, Medhi B, Reddy DH. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: current progress in molecular signaling and therapeutics. *Inflammation*. 2023; 46(1):1-17.
- Shim K, Begum R, Yang C, Wang H. Complement activation in obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes*. 2020; 11(1):1.
- Li Z, Zhang W, Gao F, Tang Q, Kang D, Shen Y. Different complement activation pathways underly cognitive impairment and type 2 diabetes Mellitus combined with cognitive impairment. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2022; 14:810335.
- Bertram S, Brixius K, Brinkmann C. Exercise for the diabetic brain: how physical training may help prevent dementia and Alzheimer's disease in T2DM patients. *Endocrine*. 2016; 53:350-63.
- Soares RN, Lessard SJ. Low Response to Aerobic Training in Metabolic Disease: Role of Skeletal Muscle. *Exerc Sport Sci Rev*. 2024 Apr 1;52(2):47-53.
- Sato S, Basse AL, Schöнке M, Chen S, Samad M, Altıntaş A, et al. Time of exercise specifies the impact on muscle metabolic pathways and systemic energy homeostasis. *Cell metabolism*. 2019; 30(1):92-110. e4.
- Mancilla R, Brouwers B, Schrauwen-Hinderling VB, Hesselink MK, Hoeks J, Schrauwen P. Exercise training elicits superior metabolic effects when performed in the afternoon compared to morning in metabolically compromised humans. *Physiological Reports*. 2021; 8(24):e14669.
- Cassilhas RC, De Sousa RAL, Caxa L, Viana V, Meeusen R, Goncalves FL, et al. Indoor aerobic exercise reduces exposure to pollution, improves cognitive function, and enhances BDNF levels in the elderly. *Air Quality, Atmosphere & Health*. 2022; 15(1):35-45.
- Rodriguez-Escudero JP, Pack QR, Somers VK, Thomas RJ, Squires RW, Sochor O, et al. Diagnostic performance of skinfold method to identify obesity as measured by air displacement plethysmography in cardiac rehabilitation. *Journal of cardiopulmonary rehabilitation and prevention*. 2014; 34(5):335-42.

14. Mollnes TE, Storm BS, Brekke OL, Nilsson PH, Lambris JD, editors. Application of the C3 inhibitor compstatin in a human whole blood model designed for complement research—20 years of experience and future perspectives. *Seminars in Immunology*. 2022; Elsevier.
15. Asghari F, Tofighi A, Seyyed Mardani SM. Impact of aquatic training on immunity Responses of CRP and C3, C4 Complement Proteins in Patients with Rheumatoid Arthritis. *RJMS*. 2017; 23 (151) :21-30
16. Rothschild-Rodriguez D, Causer AJ, Brown FF, Collier-Bain HD, Moore S, Murray J, et al. The effects of exercise on complement system proteins in humans: a systematic scoping review. *Exercise Immunology Review*. 2022; 28:1-35.
17. Al-Muraikhy S, Ramanjaneya M, Dömling AS, Bettahi I, Donati F, Botre F, et al. High Endurance Elite Athletes Show Age-dependent Lower Levels of Circulating Complements Compared to Low/Moderate Endurance Elite Athletes. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2021; 8:715035.
18. Wibawa JC, Febrianto N, Fudin MS, Ockta Y, Festiawan R. The mechanism of physical exercise increases glutathione peroxidase as an endogenous antioxidant: a systematic review. *Retos*. 2025; 63:610-9.
19. Militello R, Luti S, Gamberi T, Pellegrino A, Modesti A, Modesti PA. Physical activity and oxidative stress in aging. *Antioxidants*. 2024; 13(5):557.
20. Bacanoiu MV, Danoiu M, Rusu L, Marin MI. New directions to approach oxidative stress related to physical activity and nutraceuticals in normal aging and neurodegenerative aging. *Antioxidants*. 2023; 12(5):1008.
21. Ye Y, Lin H, Wan M, Qiu P, Xia R, He J, et al. The effects of aerobic exercise on oxidative stress in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in physiology*. 2021; 12:701151.
22. Park KS, Nickerson BS. Aerobic exercise is an independent determinant of levels of inflammation and oxidative stress in middle-aged obese females. *Journal of exercise rehabilitation*. 2022; 18(1):43.
23. Ramanjaneya M, Abdalhakam I, Bettahi I, Bensila M, Jerobin J, Aye MM, et al. Effect of moderate aerobic exercise on complement activation pathways in polycystic ovary syndrome women. *Frontiers in Endocrinology*. 2022; 12:740703.
24. Kostrzewa-Nowak D, Kubaszewska J, Nowakowska A, Nowak R. Effect of aerobic and anaerobic exercise on the complement system of proteins in healthy young males. *Journal of Clinical Medicine*. 2020; 9(8):2357.
25. Haspel JA, Anafi R, Brown MK, Cermakian N, Depner C, Desplats P, et al. Perfect timing: circadian rhythms, sleep, and immunity - an NIH workshop summary. *JCI Insight*. 2020; 5(1):e131487.
26. Ince LM, Barnoud C, Lutes LK, Pick R, Wang C, Sinturel F, et al. Influence of circadian clocks on adaptive immunity and vaccination responses. *Nature communications*. 2023; 14(1):476.
27. Burek K, Rabstein S, Kantermann T, Vetter C, Wang-Sattler R, Lehnert M, et al. Altered coordination between sleep timing and cortisol profiles in night working female hospital employees. *Psychoneuroendocrinology*. 2024; 166:107066.
28. Shivshankar P, Fekry B, Eckel-Mahan K, Wetsel RA. Circadian clock and complement immune system—complementary control of physiology and pathology? *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2020; 10:418.
29. Córdova A, Sureda A, Tur J, Pons A. Immune response to exercise in elite sportsmen during the competitive season. *Journal of physiology and biochemistry*. 2010; 66:1-6.
30. Reis ES, Lange T, Köhl G, Herrmann A, Tschulakow AV, Naujoks J, et al. Sleep and circadian rhythm regulate circulating complement factors and immunoregulatory properties of C5a. *Brain, behavior, and immunity*. 2011; 25(7):1416-26.
31. Lung T, Matozan K, Risch M, Sakem B, Nydegger UE, Risch L. Complement systems C4, C3 and CH50 not subject to a circadian rhythm. *Diagnosis*. 2018; 5(2):77-82.
32. Agarwal S, Ghosh R, Verma G, Khadgawat R, Guchhait P. Alpha-ketoglutarate supplementation reduces inflammation and thrombosis in type 2 diabetes by suppressing leukocyte and platelet activation. *Clinical and Experimental Immunology*. 2023; 214(2):197-208.
33. Margaryan S, Kriegova E, Fillerova R, Smotkova Kraiczova V, Manukyan G. Hypomethylation of IL1RN and NFKB1 genes is linked to the dysbalance in IL1 $\beta$ /IL-1Ra axis in female patients with type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*. 2020; 15(5):e0233737.
34. Dinarello CA, Donath MY, Mandrup-Poulsen T. Role of IL-1 $\beta$  in type 2 diabetes. *Current Opinion in Endocrinology. Diabetes and Obesity*. 2010; 17(4):314-21.
35. Wang L, Ma J, Wu W, Fang Y, Liu F, Yang Q, et al. Effect of aerobic exercise as a treatment on type 2 diabetes mellitus with depression-like behavior zebrafish. *Life Sciences*. 2022; 300:120578.
36. Brito LC, Marin TC, Azevêdo L, Rosa-Silva JM, Shea SA, Thosar SS. Chronobiology of exercise: Evaluating the best time to exercise for greater cardiovascular and metabolic benefits. *Comprehensive Physiology*. 2022; 12(3):3621.
37. Nemati J, Ghodrat L, Hojjati F. The anti-inflammatory effect of high intensity interval training in overweight women with type 2 diabetes. *Journal of sport and exercise physiology*. 2017; 10(1): 79-88.