

## 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>، عدرا 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. *ijddl*. 2025; 25(4):331-340.

\* نویسنده مسئول: عدرا محمدپناه اردکان، آدرس: اردکان، بلوار آیت الله خاتمی، دانشگاه اردکان، کد پستی: ۸۹۵۱۸-۹۵۴۹۱، تلفن: ۰۳۵-۳۲۹۰۰۰۰۰، نمابر: ۰۳۵-۳۲۲۴۸۳۸۴، موبایل: ۰۹۱۳۷۲۳۲۶۹۶، پست الکترونیک: azramohammadpanah@ardakan.ac.ir

## مقدمه

طی نیم قرن اخیر، شاهد افزایش چشمگیر جمعیت سالمندان و همزمان با آن، شیوع دیابت نوع دو در این گروه سنی بوده‌ایم. در حال حاضر، تقریباً نیمی از افراد مبتلا به دیابت نوع دو را افراد بالای ۶۵ سال تشکیل می‌دهند. مدیریت دیابت در سالمندان به دلیل پیچیدگی‌های متعدد، چالش‌های قابل توجهی را به همراه دارد. از جمله این چالش‌ها می‌توان به ناهمگونی بالینی بیماران، همزمان بودن با سایر بیماری‌ها، افزایش حساسیت به افت قند خون (هیپوگلیسمی)، نیاز بیشتر به مراقبت‌های بهداشتی و افزایش ضعف جسمانی اشاره کرد. این عوامل به‌طور قابل توجهی بر پیچیدگی مدیریت دیابت در سالمندان افزوده و نیاز به رویکردهای درمانی شخصی‌سازی شده را بیش از پیش نمایان می‌سازد [۱]. دیابت نوع دو، علاوه بر تأثیرات شناخته‌شده بر سیستم‌های قلبی-عروقی و عصبی محیطی، به‌عنوان یک عامل خطر مستقل برای بیماری آلزایمر مطرح است. زیرا دیابت نوع دو می‌تواند زمینه را برای التهاب و مقاومت به انسولین در مغز فراهم کند که هر دو به‌طور مستقیم با بیماری آلزایمر مرتبط هستند. التهاب مزمن و اختلال در عملکرد انسولین در مغز، بستر را برای مرگ سلول‌های عصبی و زوال تدریجی حافظه و عملکردهای شناختی فراهم می‌کند [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 سیتوکین‌ها و کموکین‌ها، فعال شدن میکروگلیا و آسیب التهابی عروقی در مغز بیماران منجر به بیماری آلزایمر می‌شود [۳].

خانواده اینترلوکین ۱ (IL-1)، گروهی از سیتوکین‌ها هستند که نقش مرکزی در تنظیم پاسخ‌های ایمنی و التهابی دارند. دیابت نوع دو به‌عنوان یک بیماری میانجی‌گری شده توسط سیستم ایمنی شناخته شده است که منجر به اختلال در سیگنالینگ انسولین و تخریب انتخابی سلول‌های بتای تولیدکننده انسولین می‌شود که در آن سیتوکین‌ها نقش مهمی دارند. اختلال در پاسخ ضد التهابی می‌تواند یک جزء حیاتی التهاب مزمن باشد که منجر به دیابت نوع دو می‌شود. خانواده سیتوکین‌های IL-1 به‌ویژه اینترلوکین ۱ بتا<sup>۱</sup> (IL-1 $\beta$ )، نقش مهمی در غدد درون‌ریز و در تنظیم پاسخ‌های مرتبط با استرس التهابی دارند [۴]. از طرفی، سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1 $\beta$  نقش دوگانه‌ای در فرآیندهای نورودژنراسیون و محافظت عصبی دارند. افزایش سیگنالینگ التهابی از طریق IL-1 $\beta$  منجر به آزادسازی واسطه‌های ایمنی

می‌شود که بر عملکرد نورون‌ها تأثیر منفی گذاشته و باعث مرگ سلولی می‌شوند. در مقابل، ضعف سیستم‌های ضدالتهابی به تشدید التهاب عصبی و پیشرفت بیماری آلزایمر کمک می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که IL-1 $\beta$  با فعال‌سازی میکروگلیا و آستروسیت‌ها، التهاب را در مغز افزایش داده و باعث پیشرفت بیشتر آسیب‌های عصبی مرتبط با آلزایمر می‌شود. بنابراین، هدف قرار دادن مسیرهای مولکولی و سیتوکین‌های التهابی مانند IL-1 $\beta$  می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد درمانی مؤثر برای کاهش التهاب عصبی و کاهش سرعت پیشرفت آلزایمر مطرح باشد [۵].

علاوه بر این، شواهد نشان می‌دهند که سیستم کمپلمان نقشی اساسی در اکثر عوارض ناشی از دیابت ایفا می‌کند. سیستم کمپلمان یک جزء مرکزی ایمنی ذاتی است و با حذف میکروب‌های عفونی، بقایای سلولی، تکمیل فرآیندهای ایمنی و التهابی و ارسال سیگنال‌های «خطر»، به‌طور قابل توجهی به هموستاز کمک می‌کند. سیستم کمپلمان در ابتدا به‌عنوان یک خط دفاعی اولیه حمایتی در برابر مهاجمان میکروبی تلقی می‌شد؛ با این حال، پژوهش‌ها در دهه گذشته دریافته‌اند که عملکردهای سیستم کمپلمان فراتر از دفاع و حذف میکروب‌ها گسترش می‌یابد و در فرآیندهای متنوعی مانند پاکسازی کمپلکس‌های ایمنی، بسیج سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک، بازسازی بافت، بلوغ سیناپس، آنژیوژنز و متابولیسم لیپیدها شرکت می‌کند [۶]. تحقیقات گسترده، ارتباط قوی بین سیستم کمپلمان و مقاومت به انسولین، اختلال عملکرد سلول‌های بتای لوزالمعده و عوارض عروقی دیابتی را تأیید کرده‌اند. علاوه بر این، شواهد نشان می‌دهند که سیستم کمپلمان با سیستم عصبی مرکزی نیز تعامل پیچیده‌ای دارد. فعال‌سازی نامتعادل یا بیش از حد سیستم کمپلمان می‌تواند 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. درمان‌های کمپلمان می‌تواند یکی از مسیرهای ممکن برای کند کردن عوارض دیابتی باشد [۷].

اما خبر امیدوارکننده این است که با کنترل دیابت نوع دو می‌توان خطر ابتلا به بیماری آلزایمر را به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد. این امر از طریق اتخاذ یک سبک زندگی سالم و پایدار، که شامل رژیم غذایی متعادل، فعالیت ورزشی منظم و حفظ وزن ایده‌آل می‌شود، قابل دستیابی است [۲]. یکی از مهم‌ترین این عوامل فعالیت ورزشی است. زیرا فعالیت ورزشی منظم با تقویت شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش استرس اکسیداتیو و اثرات ضدالتهابی، می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های تحلیل برنده عصبی

<sup>1</sup> Interleukin-1<sup>2</sup> Interleukin-1 $\beta$

در دسترس از بین زنان واجد شرایط (تشخیص دیابت نوع دو توسط پزشک،  $HbA1c \leq 7.5\%$  درصد، قند خون ناشتا  $\leq 126$  میلی گرم بر دسی لیتر) 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 کم تحرک 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 نرم افزار G\*Power محاسبه شد. با در نظر گرفتن سطح معناداری ۰/۰۵، توان آزمون ۰/۸۰ و برآورد اندازه اثر ۰/۵۳، حجم نمونه مورد نیاز برای هر گروه ۱۳ نفر تعیین شد. با این حال، به منظور 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

را در بیماران دیابتی کاهش دهد [۸]. توجه به این اثرات مفید، گنجاندن تمرینات ورزشی منظم در برنامه‌های پیشگیری برای بیماران دیابتی، به منظور کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های تحلیل برنده عصبی در این گروه خاص از بیماران، بسیار ضروری است. ثابت شده است که فعالیت ورزشی هوازی به عنوان یک راهبرد مؤثر برای بهبود سلامت متابولیک، به ویژه 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، به دلیل تأثیرگذاری نور، تغذیه و فعالیت سلولی، با یکدیگر فرق می‌کند. پیام‌هایی که باعث تنظیمات ساعت بیولوژیک می‌شوند به عنوان 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، به ویژه در جمعیت‌های خاص مانند زنان سالمند مبتلا به دیابت نوع دو، به طور 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-1 $\beta$  در زنان سالمند مبتلا به دیابت نوع دو طراحی شده است.

### روش‌ها

پژوهش حاضر از نوع نیمه تجربی از نوع طراحی گروه کنترل غیرمعادل با پیش آزمون و پس آزمون 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  $50.7 \pm 6.0$  سال مراجعه کننده به انجمن دیابت شهرکرد در سال ۱۴۰۲ بودند. نمونه‌گیری به روش

<sup>۱</sup> Zeitgebers

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

### 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 گروه‌ها، آزمون لون ارزیابی شد. سپس برای بررسی تفاوت بین میانگین‌های 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 آزمون‌ها ۰/۰۵ تعیین شد. جهت ترسیم نمودارها از نرم افزار گراف پد پریم نسخه ۹ استفاده شده است.

### یافته‌ها

یافته‌های توصیفی شامل شاخص‌های 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 مقایسه‌های چندگانه بونفرونی، تفسیر نتایج به این صورت است:

در مورد متغیر متغیر وابسته IL-1 $\beta$  تعامل بین گروه‌ها و زمان (گروه‌ها \* زمان) معنی دار نبود ( $P = 0/3399$ ). این به این معناست که اثر زمان بر متغیر وابسته IL-1 $\beta$  در گروه‌های مختلف به طور یکسان عمل می‌کند و تفاوت چشم‌گیری بین تأثیر زمان در گروه‌ها مشاهده نشده است. همچنین نتایج نشان داده شد که تفاوت معنی داری بین گروه‌ها وجود ندارد ( $P = 0/2093$ ) این بدان معنی است که میانگین متغیر وابسته IL-1 $\beta$  در هیچ یک از گروه‌ها با بقیه متفاوت نیست. تفاوت معنی داری بین زمان‌های مختلف مشاهده شد ( $P = 0/0003$ ). به این معنا که میانگین سطح IL-1 $\beta$  در طول زمان 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 ( $P = 0/0045$ ). همچنین نتایج نشان می‌دهد 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 ضربان‌سنج کنترل می‌شد [۱۲].

### بررسی متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی

برای بررسی متغیرهای بیوشیمیایی، خون‌گیری به صورت ناشتا قبل و بعد از ۱۲ هفته مداخله تمرینی انجام خواهد شد. از همه آزمودنی‌ها خواسته شد که ۴۸ ساعت قبل از خون‌گیری اولیه، هیچ گونه فعالیت ورزشی انجام ندهند. خون‌گیری متعاقب ۱۲ - ۱۰ ساعت ناشتایی شبانه و از طریق ورید بازویی به مقدار پنج میلی‌لیتر انجام شد. نمونه‌های خونی بین ساعات ۸ الی ۱۰ صبح جمع‌آوری شد. برای اندازه‌گیری متغیر C3 (شماره کیت: SLD023Hu، حساسیت: ۴/۶۹ نانوگرم بر میلی‌لیتر) و IL-1 $\beta$  (شماره کیت: SLD0 1Hu، حساسیت ۱ پیکوگرم بر میلی‌لیتر) در نمونه‌های انسانی، از کیت الیزا (ELISA) استفاده شد که شامل مراحل زیر است: نمونه خون کامل به منظور جداسازی پلاسما، در لوله‌های حاوی ضد انعقاد جمع‌آوری و پس از ۱۰ تا ۲۰ دقیقه ماندن در دمای محیط، سانتریفیوژ شد. سپس C3 و IL-1 $\beta$  صفحات میکروالایزا از پیش با آنتی‌بادی خاصی پوشش داده شدند. نمونه‌ها و استانداردهای C3 و IL-1 $\beta$  به چاهک‌های صفحه اضافه شدند. آنتی‌بادی کوزوگه با HRP<sup>۲</sup> به چاهک‌ها اضافه شد و پس از انکوباسیون، اجزای آزاد شسته شدند. پس از شستشو، محلول TMB<sup>۳</sup> اضافه شد که باعث ایجاد رنگ آبی شد. سپس محلول متوقف‌کننده اضافه شد که رنگ را به زرد تبدیل کرد. جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت‌های استاندارد C3 و IL-1 $\beta$  و مقدار OD<sup>۴</sup> مربوط به آنها رسم شد. غلظت C3 و IL-1 $\beta$  در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شده و با ضرب در فاکتور رقیق‌سازی، 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) اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است آماره نمایه توده بدنی (BMI)<sup>۵</sup> و درصد چربی از روابط زیر به دست آمده است:

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

<sup>1</sup> Heart Rate Reserve

<sup>2</sup> Horseradish Peroxidase

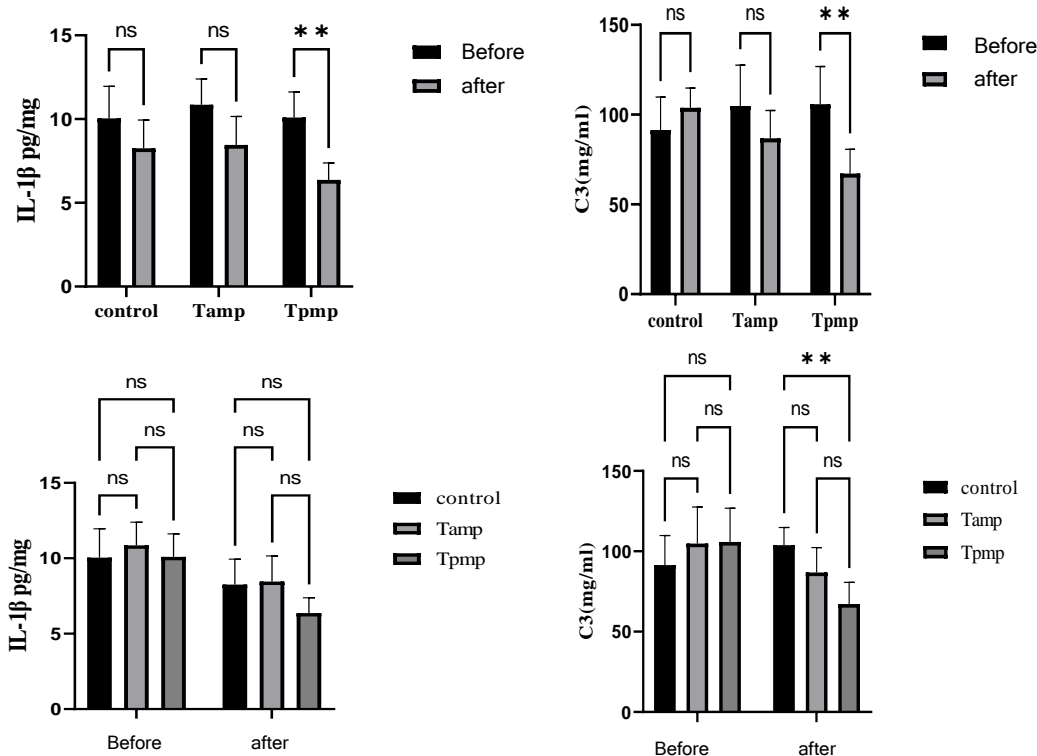
<sup>3</sup> 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine

<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	۳/۳۵	۳/۳۵
	تمرین عصر	۳۰/۱۱	۴/۸۸	۱۵	۲۹/۵۴	۴/۵۷	۱۵	۴/۵۷	۴/۵۷
	کنترل	۲۹/۲۱	۴/۰۰	۱۵	۲۹/۴۳	۳/۹۳	۱۵	۳/۹۳	۳/۹۳
قند خون (میلی گرم بر دسی لیتر)	تمرین صبح	۱۷۹/۸۵	۴۵/۵۸	۱۵	۱۴۳/۸۵	۳۶/۶۷	۱۵	۳۶/۶۷	۳۶/۶۷
	تمرین عصر	۱۵۱/۹۲	۴۹/۱۵	۱۵	۱۲۷/۱۴	۲۶/۶۷	۱۵	۲۶/۶۷	۲۶/۶۷
	کنترل	۱۵۱/۹۰	۱۷/۸۹	۱۵	۱۵۹/۴۰	۲۶/۸۴	۱۵	۲۶/۸۴	۲۶/۸۴
درصد چربی	تمرین صبح	۲۵/۶۸	۴/۷۷	۱۵	۲۵/۳۵	۴/۴۰	۱۵	۴/۴۰	۴/۴۰
	تمرین عصر	۲۸/۰۳	۳/۹۹	۱۵	۲۶/۸۸	۳/۸۶	۱۵	۳/۸۶	۳/۸۶
	کنترل	۲۷/۱۵	۲/۷۱	۱۵	۲۷/۲۱	۲/۶۹	۱۵	۲/۶۹	۲/۶۹
IL1β (پیکوگرم بر میلی گرم)	تمرین صبح	۱۰/۸۶	۱/۵۳	۱۵	۸/۴۵	۱/۶۹	۱۵	۱/۶۹	۱/۶۹
	تمرین عصر	۱۰/۰۹	۱/۵۲	۱۵	۶/۳۶	۱/۰۱	۱۵	۱/۰۱	۱/۰۱
	کنترل	۱۰/۰۴	۱/۹	۱۵	۸/۲۶	۱/۶۷	۱۵	۱/۶۷	۱/۶۷
C3 (میلی گرم بر میلی لیتر)	تمرین صبح	۱۰۴/۸۶	۲۲/۶۷	۱۵	۸۶/۷۷	۱۵/۶۰	۱۵	۱۵/۶۰	۱۵/۶۰
	تمرین عصر	۱۰۵/۸۳	۲۱/۰۲	۱۵	۶۷/۱۵	۱۳/۴۸	۱۵	۱۳/۴۸	۱۳/۴۸
	کنترل	۹۱/۴۶	۱۸/۴۰	۱۵	۱۰۳/۸۳	۱۰/۹۷	۱۵	۱۰/۹۷	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>1</sup> Training ante meridiem Protocol

<sup>2</sup> Training post meridiem Protocol

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 می‌توانند 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 گلوکاتایون 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 به‌عنوان 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 به‌طور موقت سطح ROS را افزایش دهد، اما فعالیت ورزشی منظم و متوسط به‌طور کلی در تقویت دفاع‌های آنتی‌اکسیدانی و ارتقای سلامت کلی مؤثر است [۱۹، ۲۰]. استرس اکسیداتیو می‌تواند باعث

در مورد متغیر متغیر وابسته C3 تعامل بین گروه‌ها و زمان (گروه‌ها \* زمان) معنی‌دار نبود ( $P=0/0139$ ). این به این معناست که اثر زمان بر متغیر وابسته C3 در گروه‌های مختلف به‌طور یکسان عمل نمی‌کند و تفاوت چشم‌گیری بین تأثیر زمان در گروه‌ها مشاهده شده است. تفاوت معنی‌داری 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 معنی‌داری بین زمان‌ها وجود داشت ( $P=0/0283$ )، نشان دهنده این است که تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف وجود دارد، یعنی میانگین C3 در زمان‌های مختلف تغییر کرده است. این نشان می‌دهد که زمان به‌عنوان 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 به‌طور معنی‌داری 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 معنی‌داری 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 به‌دلیل 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

<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 گروه‌های تمرینی هوازی صبح و عصر و گروه کنترل بود. هر چند گروهی که در مرحله تاریکی تمرین می‌کردند، در مقایسه با گروه کنترل و گروه تمرین در مرحله روشنایی، کاهش معنی‌داری در سطح IL-1 $\beta$  را نشان دادند. سطح سیتوکین التهابی IL-1 $\beta$  در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو در مقایسه با افراد سالم افزایش نشان می‌دهد التهاب مزمن با درجه پایین یکی از مشخصه‌های دیابت نوع دو است و IL-1 $\beta$  یک سایتوکین پیش‌التهابی 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 سلول‌های بتا منجر می‌شود [۳۴-۳۲]. فعالیت ورزشی منظم می‌تواند 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 شبانه‌روزی بدن فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی، از جمله پاسخ‌های ایمنی را تنظیم می‌کند. فعالیت ورزشی در مرحله تاریکی با کاهش طبیعی نشانگرهای التهابی هماهنگ است و اثرات ضد التهابی فعالیت بدنی را افزایش می‌دهد همچنین فعالیت ورزشی در مرحله تاریکی ممکن است به دلیل تأثیر بر ریتم‌های شبانه‌روزی بدن، الگوهای ترشح هورمون‌هایی مانند کورتیزول و هورمون رشد را به گونه‌ای تعدیل کند که منجر به بهبود پاسخ‌های التهابی شود [۳۶]. علاوه بر این، فعالیت ورزشی همچنین می‌تواند زمان‌بندی سیستم شبانه‌روزی را بازنشانی کند، که این احتمال را افزایش می‌دهد که از زمان مناسب ورزش برای مقابله با اختلالات شبانه‌روزی استفاده شود IL-1 $\beta$  یک سیتوکین التهابی است که توسط سلول‌های مختلف سیستم ایمنی، به‌خصوص ماکروفاژها، مونوسیت‌ها و سلول‌های دندریتیک ترشح می‌شود. در این مطالعه، سطوح IL-1 $\beta$  فقط در سرم خون اندازه‌گیری شد. با این حال، ممکن است سطوح IL-1 $\beta$  در محل التهاب (مانند عضلات درگیر در تمرین) به‌طور قابل توجهی متفاوت از سطوح موجود در سرم باشد. عدم بررسی سطوح IL-1 $\beta$  در بافت‌های مرتبط با فعالیت ورزشی می‌تواند به عدم مشاهده تفاوت معنادار در گروه‌های 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 Rothschild-Rodriguez (۲۰۲۲) هم‌خوان بود [۲۴، ۲۳، ۱۶]. 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 این‌طور می‌شود بیان کرد که تمرین در زمان‌های مختلف روز می‌تواند تأثیرات متفاوتی بر سیستم ایمنی بدن داشته باشد و این تفاوت‌ها ممکن است به دلیل تغییرات هورمونی و فیزیولوژیکی بدن در طول روز باشد. ثابت شده است که پروتئین‌های ریتم شبانه‌روزی مانند BMAL1<sup>۱</sup> و CLOCK<sup>۲</sup> با تنظیم تولید سیتوکین‌ها، سیستم کمپلمان و لکوسیت‌ها، نقش حیاتی در ایمنی ذاتی ایفا می‌کنند و با تأثیر بر عملکرد سلول‌های T، خانه‌گزینی سلول‌های دندریتیک و زمان‌بندی واکنش‌های ایمنی اکتسابی را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند؛ این پروتئین‌ها از طریق سازکارهای مولکولی نظیر کنترل رونویسی، تنظیم اپی‌ژنتیک و حسگر پاتوژن، پاسخ‌های ایمنی را هماهنگ کرده و از التهاب بیش از حد جلوگیری می‌کنند، و اختلال در ریتم‌های شبانه‌روزی می‌تواند منجر به التهاب سیستمیک، افزایش حساسیت به عفونت و اختلالات خودایمنی شود که بر اهمیت زمان‌بندی در مداخلات ایمنی تأکید می‌کند [۲۶، ۲۵].

در این زمینه، چندین مطالعه نشان داده‌اند که ریتم شبانه‌روزی بدن می‌تواند بر عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی تأثیر بگذارد. هورمون‌هایی مانند کورتیزول که نقش مهمی در پاسخ‌های استرسی و التهابی دارند، در طول روز تغییر می‌کنند. کورتیزول به‌طور معمول در صبح به اوج خود می‌رسد و در طول روز کاهش می‌یابد. این تغییرات می‌توانند بر سیستم ایمنی و سطح کمپلمان C3 تأثیر بگذارند [۲۸، ۲۷].

این مطالعه با پژوهش Córdova و همکاران (۲۰۱۰)، Reis و همکاران (۲۰۱۱) و Lung و همکاران (۲۰۱۸) هم‌خوان نبود [۳۱-۲۹]. از علل ناهمخوانی می‌توان آزمودنی‌ها متفاوت (سن، سطح آمادگی جسمانی و وضعیت سلامت)، تفاوت در دستورالعمل‌های تمرینی (نوع، شدت و مدت تمرین) و تفاوت در روش اندازه‌گیری متغیر (زمان نمونه‌گیری خون و روش اندازه‌گیری) پژوهش حاضر با پژوهش‌های 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 یافته‌های این مطالعه، پیشنهاد می‌شود که احتمالاً تمرینات هوازی در عصر می‌تواند 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 می‌توانند با مشورت با پزشک خود برنامه تمرینی مناسب با نیازها و توانایی‌های خود را دریافت کنند.

### تعارض منافع

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

### سپاسگزاری

از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (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 یافته‌های قابل توجه، به دلیل محدودیت‌های ذاتی در طراحی مطالعه، نیازمند تفسیر دقیق و احتیاط آمیز است. یکی از مهم‌ترین محدودیت‌ها، حجم نمونه نسبتاً کم است که می‌تواند بر قدرت آماری مطالعه و تعمیم‌پذیری نتایج به جمعیت بزرگ‌تر تأثیر بگذارد. همچنین، تمرکز پژوهش بر تمرینات هوازی با شدت متوسط و مدت زمان ۱۲ هفته، محدودیت‌هایی را در تعمیم نتایج به انواع دیگر تمرین و تأثیرات بلندمدت ایجاد می‌کند. علاوه بر این، اندازه‌گیری محدود به دو پروتئین التهابی، از جامعیت نتایج کاسته و درک عمیق‌تری از سازکارهای مولکولی را می‌طلبد. با وجود نتایج حاصل از پژوهش حاضر، ضرورت انجام مطالعات آتی با طراحی‌های آزمایشی جامع‌تر، شامل اعمال انواع تمرینات ورزشی متنوع و افزایش حجم نمونه، جهت دستیابی به درک عمیق‌تر از تأثیر زمان بندی تمرینات ورزشی بر پاسخ‌های التهابی در جمعیت افراد مبتلا به دیابت نوع دو، مورد تأکید قرار می‌گیرد. مطالعات آتی می‌توانند با بررسی انواع مختلف تمرین، مدت زمان‌های طولانی‌تر، اندازه‌گیری طیف وسیعی از بیومارکرها و در نظر گرفتن تفاوت‌های 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, Kuhla 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, Schönke 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.