

การเปรียบเทียบผลของการฝึกแอโรบิกแบบต่อเนื่องและการฝึกแอโรบิกแบบสลับช่วงที่มีต่อการควบคุมระดับน้ำตาลและการขยายหลอดเลือดผ่านการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2

นายวิฑิต มิตรานันท์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การกีฬา
คณะวิทยาศาสตร์การกีฬา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2555
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

A COMPARISON BETWEEN THE EFFECTS OF CONTINUOUS AND INTERVAL
AEROBIC TRAINING ON GLYCEMIC CONTROL AND ENDOTHELIAL DEPENDENT
VASODILATATION IN TYPE 2 DIABETES PATIENTS

Mr. Witid Mitranun

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Sports Science
Faculty of Sports Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2012
Copyright of Chulalongkorn University

วิฑิต มิตรานันท์ : การเปรียบเทียบผลของการฝึกแอโรบิกแบบต่อเนื่องและการฝึกแอโรบิกแบบสลับช่วงที่มีต่อการควบคุมระดับน้ำตาลและการขยายหลอดเลือดผ่านการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2. (A COMPARISON BETWEEN THE EFFECTS OF CONTINUOUS AND INTERVAL AEROBIC TRAINING ON GLYCEMIC CONTROL AND ENDOTHELIAL DEPENDENT VASODILATATION IN TYPE 2 DIABETES PATIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร.ครุณวรรณ สุขสม, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ศ.คลินิกพิเศษ นพ.ชัยชาญ ติโรจนวงศ์, Assoc. Prof. Hirofumi Tanaka, Ph.D., 190 หน้า.

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของการฝึกแอโรบิกแบบต่อเนื่องและการฝึกแอโรบิกแบบสลับช่วงที่มีต่อการควบคุมระดับน้ำตาลและการขยายหลอดเลือดผ่านการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 ทั้งเพศชายและหญิง อายุ 50-70 ปี จำนวน 43 คน แบ่งออกเป็นสามกลุ่มได้แก่ กลุ่มควบคุม จำนวน 15 คน กลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่อง จำนวน 14 คน และกลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วง จำนวน 14 คน โปรแกรมการออกกำลังกายในกลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่องและกลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงถูกออกแบบให้มีการใช้พลังงานและระยะเวลาในการฝึกที่เท่ากัน โดยเป็นการออกกำลังกายครั้งละ 30 หรือ 40 นาที 3 ครั้ง/สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทำการเก็บข้อมูลตัวแปรทางสรีรวิทยา สุขสมรรถนะ หน้าทีการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือด และสารชีวเคมีในเลือด นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างก่อนและหลังการทดลองโดยการวิเคราะห์ค่าทีแบบรายคู่ เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ .05

ผลการวิจัยพบว่า

1. น้ำหนักตัว ดัชนีมวลกาย มวลไขมัน อัตราส่วนรอบเอวต่อสะโพก และอัตราการเต้นหัวใจขณะพักของทั้งกลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่องและกลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงมีค่าลดลง ส่วนความแข็งแรงของกล้ามเนื้อขาเพิ่มมากขึ้นในทั้งกลุ่มออกกำลังกายทั้งสองกลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

2. น้ำตาลในเลือดและความเคี้ยวต่ออินซูลินมีค่าลดลงในกลุ่มออกกำลังกายทั้งสองกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 แต่เฉพาะกลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงที่มีค่าไกลโคซีเลทอีโมโกลบินลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

3. อัตราการใช้ออกซิเจนสูงสุด การไหลของเลือดผ่านการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือด และการไหลของเลือดขึ้นควาทาเนียส เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนการทดลองในกลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่องและกลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .05 แต่กลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงมีการเพิ่มขึ้นของค่าดังกล่าวมากกว่ากลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่องอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .05.

4. มาลอนไดอัลลีสต์ และวอนวิตลิเบนค์แฟคเตอร์ในเม็ดเลือดแดงลดลง กลูต้าไทโอนเพอรอกซิเดส และไนตริกออกไซด์ในพลาสมาเพิ่มขึ้นในกลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ .05 ในขณะที่กลุ่มออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่องไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าว

สรุปได้ว่า การฝึกออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่องและการฝึกออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงมีประสิทธิภาพในการพัฒนาการควบคุมระดับน้ำตาล สุขสมรรถนะ และหน้าทีการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือด แต่การฝึกออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงให้ผลที่ดีกว่าการฝึกแอโรบิกแบบต่อเนื่อง

สาขาวิชา..... วิทยาศาสตร์การกีฬา..... ลายมือชื่อนิสิต.....
ปีการศึกษา..... 2555..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5378960039 : MAJOR SPORTS SCIENCE

KEYWORDS : INTERVAL AEROBIC TRAINING / CONTINUOUS AEROBIC TRAINING / GLYCEMIC CONTROL / ENDOTHELIAL DYSFUNCTION / ENDOTHELIAL DEPENDENT VASODILATATION

WITID MITRANUN : A COMPARISON BETWEEN THE EFFECTS OF CONTINUOUS AND INTERVAL AEROBIC TRAINING ON GLYCEMIC CONTROL AND ENDOTHELIAL DEPENDENT VASODILATATION IN TYPE 2 DIABETES PATIENTS. ADVISOR : ASSOC. PROF. DAROONWAN SUKSOM, Ph.D., CO-ADVISOR : PROF. CHAICHARN DEEROCHANAWONG, M.D., ASSOC. PROF. HIROFUMI TANAKA, Ph.D., 190 pp.

The objective of this study was to compare the effects of continuous aerobic exercise training (CON) and interval aerobic exercise training (INT) on glycemic control and endothelium-dependent vasodilatation in patients with type 2 diabetes. A total of 43 participants with type 2 diabetes aged 50-70 years were stratified in parallel-group study and randomly allocated to the sedentary control, continuous aerobic training (CON), and interval aerobic training (INT) groups. Exercise training programs were designed to yield the same energy expenditure/exercise session and included walking on treadmill for 30 or 40 minutes/day, 3 times/week for 12 weeks. Biological variables, health-related physical fitness, endothelial function and biochemistry variables between pre-test and post-test were analyzed by a paired t-test. One way analysis of variance was used to compare the variables among groups. Differences were considered to be significant at $p < .05$

The results of the present study were as follow :

1. Body mass, BMI, body fatness, waist-to-hip ratio, and heart rate at rest decreased and leg muscle mass and muscle strength increased (all $p < 0.05$) significantly in both the CON and INT groups when compared with pre-test.
2. Fasting blood glucose and insulin resistance levels decreased ($p < 0.05$) in both exercise groups but glycosylated hemoglobin levels decreased ($p < 0.05$) significantly only in the INT group when compared with pre-test.
3. Maximal aerobic capacity, flow-mediated dilation, and cutaneous blood flow increased (all $p < 0.05$) significantly in both exercise groups; however, the magnitude of improvement was greater ($p < 0.05$) significantly in the INT group.
4. Erythrocyte malondialdehyde and serum von Willebrand factor decreased and plasma glutathione peroxidase and nitric oxide increased significantly (all $p < 0.05$) in the INT group. CON group showed no significant changes in these parameters.

In conclusion, Both CON and INT were effective in improving glycemic control, aerobic fitness, and endothelium-dependent vasodilation, but the INT program appears to confer greater improvements than the CON program.

Field of Study : Sports Science..... Student's Signature.....

Academic Year : 2012..... Advisor's Signature.....

Co-advisor's Signature.....

Co-advisor's Signature.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest and sincere gratitude and appreciation to Assoc. Prof. Dr. Daroonwan Suksom, my advisor, for her valuable guidance, supervision, encouragement and kindness which has enabled me to carry out my dissertation successfully. I am greatly indebted to Prof. Dr. Chaicharn Deerochanawong and Assoc. Prof. Dr. Hirofumi Tanaka, my co-advisor, for their valuable suggestions, helpful comments and kindness in this research.

I would like to thank the thesis examining committee for patient reading my thesis and for giving their insightful comments to improve it: Assoc. Prof. Dr. Vijit Kanungsukkasem, Assoc. Prof. Dr. Thanomwong Kritpet, Assoc. Prof. Dr. Suchitra Sukonthasab and Dr. Tossaporn Yimlamai.

I am very grateful to the entire volunteers from Diabetes club, Chulalongkorn hospital for their participation as subjects in this study. I would like to gratefully acknowledge that this thesis is successfully completed by the National Research Council of Thailand Fund and the Chulalongkorn University 90th Anniversary fund.

I would like to thank Dr. Attakorn Palasuwan and Dr. Supranee Buranapraditkun for their technical assistance in blood chemistry analysis.

Finally, I would like to express my profound gratitude and appreciation to Prof. Dr. Winyou Mitarnun and Mrs. Nongnuch Mitarnun, my dearest parent and Mrs. Salisa Mitranun, my dearest wife and my brothers for their encouragement, moral support and understanding throughout my life.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT IN THAI.....	iv
ABSTRACT IN ENGLISH.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	x
LIST OF FIGURES.....	xiii
CHAPTER I INTRODUCTION.....	1
1.1 Background and rationale.....	1
1.2 Research questions.....	5
1.3 The purpose of this study.....	5
1.4 Research Hypotheses.....	5
1.5 Scope of research.....	5
1.6 Operational definition.....	6
1.7 Expected benefits and applications.....	7
CHAPTER II LITERATURE REVIEW.....	9
2.1 Type 2 diabetes mellitus.....	9
2.2 Vascular endothelium.....	16
2.3 Oxidant and and antioxidant.....	25
2.4 Exercise.....	29
2.5 Related literatures.....	34
2.6 Conceptual framwork.....	40
CHAPTER III METHODOLOGY.....	42
3.1 Sample group.....	42
3.2 Sampling.....	42
3.3 Data collection.....	44
3.4 Instruments.....	45
3.5 Study design.....	46

	Page
3.6 Data analysis.....	54
CHAPTER IV RESULTS.....	55
4.1 Part 1 The comparison of biological data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	56
4.2 Part 2 The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	66
4.3 Part 3 The comparison of biochemistry data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	79
4.4 Part 4 The comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	94
4.5 Part 5 The comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	102
CHAPTER IV DISCUSSION AND CONCLUSION.....	111
5.1 Comparison the effects of continuous aerobic training and interval aerobic training on health-related physical fitness.....	112
5.2 Comparison the effects of continuous aerobic training and interval aerobic training on glycemic control.....	113
5.3 Comparison the effects of continuous aerobic training and interval aerobic training on endothelial dependent vasodilatation.....	115
5.4 Conclusion.....	117
5.5 Limitations of this study.....	120
5.6 Suggestion for further research.....	120
REFERENCES.....	121

APPENDICES.....	131
	Page
APPENDIX A The Institutional Review Board: Certificate of Approval.....	132
APPENDIX B Physical Activity Readiness Questionare; PAR-Q.....	137
APPENDIX C General health questionnaire.....	139
APPENDIX D Information sheet for research participant.....	142
APPENDIX E Informed consent form.....	153
APPENDIX F The component of aerobic exercise assessment forms.....	156
APPENDIX G Biological and health-related physical fitness assessment.....	167
APPENDIX H Vascular assessment.....	171
APPENDIX I Malondialdehyde.....	175
APPENDIX J Superoxide dismutase.....	179
APPENDIX K Glutathione peroxidase.....	183
APPENDIX L Nitric oxide.....	187
BIOGRAPHY.....	190

LIST OF TABLES

Table		Page
4.1	The comparison of biological data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.....	58
4.2	The comparison of biological data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training.....	59
4.3	The comparison of biological data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).....	60
4.4	The comparison of biological data between pre- and post-training in continuous aerobic training group (CON).....	60
4.5	The comparison of biological data between pre- and post-training in interval aerobic training group (INT).....	61
4.6	The comparison of biological data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	62
4.7	The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).....	68
4.8	The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training in continuous aerobic training (CON).....	69
4.9	The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training in interval aerobic training (INT).....	70
4.10	The comparison of health-related physical fitness data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.....	71

Table	Page
4.11 The comparison of health-related physical fitness data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training.....	72
4.12 The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	73
4.13 The comparison of biochemistry data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).....	81
4.14 The comparison of biochemistry data between pre- and post-training in continuous aerobic training (CON).....	82
4.15 The comparison of biochemistry data between pre- and post-training in interval aerobic training (INT).....	83
4.16 The comparison of biochemistry data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.....	84
4.17 The comparison of biochemistry data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training.....	85
4.18 The comparison of biochemistry data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	86
4.19 The comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).....	95
4.20 The comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training in continuous aerobic training group (CON).....	96
4.21 The comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training in interval aerobic training group (INT).....	96

Table	Page
4.22 The comparison of biochemistry data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.....	97
4.23 The comparison of biochemistry data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training.....	98
4.24 The comparison of cutaneous blood flow data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	99
4.25 The comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).....	103
4.26 The comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training in continuous aerobic group (CON).....	104
4.27 The comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training in interval aerobic group (INT).....	104
4.28 The comparison of brachial artery characteristics data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.....	105
4.29 The comparison of brachial artery characteristics data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training.....	106
4.30 The comparison of brachial artery characteristics data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).	107

LIST OF FIGURES

Figure	Page
2.1 Insulin signal transduction in normal subjects.....	12
2.2 Insulin signal transduction in type 2 diabetes subjects.....	12
2.3 Complications in type 2 diabetes subjects from diabetic vascular disease.....	13
2.4 The injured vascular wall.....	20
2.5 von Willeband factor (vWF) and platelet.....	20
2.6 Cutaneous blood flow at different period: resting flow (RF), occlusion period (Occl.), maximum flow (MF).....	22
2.7 Hyperglycemia leading to endothelial dysfunction.....	24
2.8 Free radical and cellular injury.....	26
2.9 Electron structure of reactive oxygen species.....	27
2.10 Interaction of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX).....	28
2.11 Hypothesized improvements in glycemic control of patients with type 2 diabetes....	32
2.12 Conceptual framework.....	40
3.1 Random selection.....	43
3.2 Random assignment.....	43
3.3 Interval aerobic training program (INT) and Continuous aerobic training program (CON).....	49
3.4 Study design.....	53
4.1 The comparative body weight between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	63
4.2 The comparative body mass index between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	64

Figure	Page
4.3 The comparative resting heart rate between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	64
4.4 The comparative systolic blood pressure between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	65
4.5 The comparative diastolic blood pressure between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	65
4.6 The comparative fat mass between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	74
4.7 The comparative resting heart rate between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	74
4.8 The comparative muscle mass between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	75
4.9 The comparative waist-to-hip ratio between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	75
4.10 The comparative muscle strength, anterior thigh (kg) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	76
4.11 The comparative muscle strength, posterior thigh (kg) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	76

Figure	Page
4.12 The comparative muscle strength, chest (kg) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	77
4.13 The comparative muscle strength, back (kg) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	77
4.14 The comparative body flexibility between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	78
4.15 The comparative maximal O ₂ consumption between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	78
4.16 The comparative fasting blood glucose between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	88
4.17 The comparative HbA1c between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	88
4.18 The comparative insulin resistance (HOMA) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	89
4.19 The comparative total cholesterol between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	89
4.20 The comparative HDL cholesterol between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	90

Figure	Page
4.21 The comparative LDL cholesterol between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	90
4.22 The comparative triglyceride between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	91
4.23 The comparative malondialdehyde between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	91
4.24 The comparative glutathione peroxidase between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	92
4.25 The comparative superoxide dismutase between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	92
4.26 The comparative nitric oxide between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	93
4.27 The comparative von Willebrand factor between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	93
4.28 The comparative resting cutaneous blood flow between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	100
4.29 The comparative maximal cutaneous blood flow between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	100

Figure	Page
4.30 The comparative ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	101
4.31 The comparative resting diameter between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	108
4.32 The comparative peak diameter between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	108
4.33 The comparative flow-mediated dilatation between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	109
4.34 The comparative time to peak diameter between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	109
4.35 The comparative shear rate between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	110
4.36 The comparative peak shear rate between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).....	110
5.1 The mechanism of continuous aerobic training on micro- and macro-vascular function.....	118
5.2 The mechanism of interval aerobic training on micro- and macro-vascular function	119

CHAPTER I

INTRODUCTION

Background and Rationale

Diabetes mellitus is the most common metabolic disease worldwide. Diabetes is related to the abnormal glucose metabolism causing hyperglycemia. The causes of diabetes are insulin insufficiency and increased insulin resistance (Shoback, 2011). Diabetes increases the risk of long-term complications. The majority of complications are related to endothelial dysfunction and damage to the blood vessels causing vascular insufficiency, tissue and organ infarction and gangrene. Diabetes doubles the risk of cardiovascular diseases and cerebrovascular diseases, and also causing chronic renal failure (diabetic nephropathy), blindness (diabetic retinopathy), and gangrene of extremities. The pathogenesis of diabetes includes genetics and environmental factors. Diabetes is classified into 4 categories: type 1, type 2, gestational diabetes, and other specific types of diabetes (American Diabetes Association, 2007).

Type 2 diabetes (Non-insulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM, adult-onset diabetes) is the most common type of diabetes and usually found in obese individuals with more than 35 years of age. This type of diabetes is related to insulin resistance, a condition in which cells fail to use insulin properly, or may be combined with insulin insufficiency (Shoback, 2011). It is a slow progressive disease and may not be related to clinical symptoms of polydipsia, polyuria and weight loss. Moreover, it is not related to B-cell destruction and the serum insulin level is usually normal or high. The definition of type 2 diabetes is a fasting blood glucose level of more than 126 mg/dL (7.0 mmol/L) (American Diabetes Association, 2007). The defective responsiveness of body tissues to insulin is believed to involve the insulin signaling, insulin receptor, and glucose transporter (Stumvoll et al., 2005).

Morbidity and mortality in type 2 diabetes mellitus are caused mainly by its vascular complications that are preceded by the dysfunction of the vascular

endothelium (Stehouwer et al., 1997). Endothelial dysfunction is a systemic pathological state of the endothelial cells defined as an imbalance between vasodilating and vasoconstricting substances produced by endothelial cells (Deanfield et al., 2005). Hyperglycemia plays a pivotal role in the development of endothelial dysfunction. There are many proposed theories concerning effects of hyperglycemia on endothelial dysfunction include activation of sorbital pathway, increased cytokines production, oxidative stress, advanced glycation end products (AGE) and AGE precursors, and non-enzymatic glycosylation of structural proteins (Goligorsky, 2005; Kolluru et al., 2011). A recent review article (Kollura et al., 2012) has summarized the signaling mechanisms of diabetes-mediated hyperglycemia leading to endothelial dysfunction by showing that hyperglycemia causes mitochondrial dysfunction, endothelial nitric oxide synthase (eNOS) uncoupling, and decrease in eNOS synthesis.

The pathophysiology of endothelial dysfunction is complex and involves multiple mechanisms. It is a functional and reversible alteration of endothelial cells, resulting from impairment of nitric oxide (NO) availability, and oxidative excess (Endermann and Schiffrin, 2004; Viridis et al., 2010). The impairment of NO production from endothelial cells results in the inability of arteries and arterioles to dilate. Insulin, via a sequence of intracellular signals activates endothelial NO synthase (eNOS) leading to production of NO in the vascular endothelium (Montagnani et al., 2001). Endothelial dysfunction is believed to be an initial key event in the development of cardiovascular disease. Correction of endothelial dysfunction may be associated with reduced cardiovascular risk (Endermann and Schiffrin, 2004; Viridis et al., 2010).

Under normal physiological conditions, the vascular endothelium produces many substances which are closely associated with hemostasis, fibrinolysis, the synthesis of growth factors and regulation of vessel tone and permeability. The von Willebrand factor (vWF) is one such substance that is synthesized by, and stored in, endothelial cells. As the vWF rate of release increases when endothelial cells are damaged, vWF levels have been proposed as a possible indicator of endothelial dysfunction (Lip and Blann, 1997). Abnormalities of vWF have been demonstrated in

type 2 diabetes and a raised vWF level is an indicator of a high risk of cardiovascular disease (Sterhouwer et al., 1992). Another report, from the Framingham Offspring Study (a community-based, prospective, observational study), has also shown that high plasma levels of vWF are associated with risk of cardiovascular disease in people with type 2 diabetes (Frankel et al., 2008).

A non-invasive method to measure endothelial dysfunction is high-frequency ultrasound Flow-Mediated Vasodilation (FMD) (Thijssen et al., 2011) and cutaneous blood flow measurement. FMD is a technique to assess macro-vascular function (Thijssen et al., 2010). While cutaneous blood flow (CBF) measurement with laser doppler flowmetry is a technique to assess micro-vascular function (Clough et al., 2009). Post occlusive reactive hyperemia (PORH) is applied in FMD and CBF method to increase blood flow (causing shear-stress) during reactive hyperemia (sphygmomanometer cuff inflation and then deflation). Indeed FMD and CBF are found to be impaired in diabetics compared with non-diabetics (Bhargava et al., 2003; Petrofsky et al., 2011).

Mitochondrial dysfunction increases free radical and oxidative stress and resulted in endothelial dysfunction. An alternative effect of hyperglycemia is the decrements of P13K and Akt protein, combined with eNOS uncoupling and oxidative stress, resulted in the decrease in nitric oxide bioavailability and production, and finally developed insulin resistance and terminated to endothelial dysfunction. Besides, hyperglycemia in type 2 diabetes is associated strongly with increasing of reactive oxygen species (ROS) (Kollura et al., 2012). ROS are species such as hydrogen peroxide, superoxide, and hydroxyl radical which leading to oxidative stress. Sources of ROS in diabetes may derive from autoxidation of glucose, AGE-formation and the binding of AGEs to receptors, increased substrate flux through the polyol pathway and stimulation of eicosanoid metabolism (De Vriese et al., 2000). ROS results in insulin resistance which leads to beta cell dysfunction (Evans et al., 2002). Tirosh et al. (1999) suggested that ROS disrupts insulin signaling and impairing GLUT4 translocation. In

addition, ROS also damage to the membranal polyunsaturated fatty acid (lipid peroxidation) leading to endothelial dysfunction. (Pryor and Stanley, 1975).

Regular physical activity, more specifically continuous moderate aerobic exercise, has been reported to be beneficial for patients with type 2 diabetes in many aspects, including body fatness (De Filippis et al., 2006), hyperglycemic control (Sigal et al., 2007) and endothelium-dependent vasodilation (De Filippis et al. 2006; Kadoglou et al., 2007). Maiorana et al. (2001) studied the effect of aerobic exercise training on vascular function in type 2 diabetes. The results showed significantly increased in FMD following 8-weeks exercise training. The national exercise guidelines (American College of Sports Medicine and American Diabetes Association, 2010) recommend most diabetic individuals to perform at least 150 min of moderate to vigorous aerobic exercise per week to achieve optimal CVD risk reduction. In this context, high-intensity exercise training appears to be more beneficial in eliciting cardiovascular adaptations than low to moderate aerobic exercise (Lee et al., 2003; Tanasescu et al., 2002). High-intensity exercise training improves the intrinsic pump capacity of the myocardium in patients with heart disease (Kemi and Wisloff, 2010). But high-intensity exercise performed for a prolonged period of time may be impractical for the elderly and patients with chronic illness including diabetics. In recent years, low-volume high-intensity interval cycling training has been shown to reduce hyperglycemia and increase muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes (Little et al., 2011). Moreover, interval exercise training, comprised of high-intensity exercise bouts alternated with low-intensity exercise bouts, was found to improve endothelium-dependent vasodilation in patients with chronic cardiovascular disease (Wisloff et al., 2007) and metabolic syndrome (Tjonna et al., 2008) through a greater improvement in FMD by interval exercise training than by continuous exercise training. These results are certainly encouraging as they suggest that interval exercise training that can be completed in shorter periods can be prescribed to patient population possibly with greater benefits. However, the effects of interval aerobic exercise training on glycemic control, vascular function, and its underlying mechanisms are currently unknown in patients with type 2 diabetes.

Therefore, the present study was designed to compare the effects of continuous aerobic training and interval aerobic training on health-related physical fitness, glycemic control and endothelial dependent vasodilatation in type 2 diabetes patients. The knowledge arised from this study will be the guildlines for the care of patients with type 2 diabetes in order to reduce the vascular complication and cost of treatment for both themselves and the nation.

Research questions

What are the different effects of continuous aerobic training and interval aerobic training on biological variables, health-related physical fitness, glycemic control and endothelial dependent vasodilatation in type 2 diabetes patients?

The purposes of this study

To compare the effects of continuous aerobic training and interval aerobic training on biological variables, health-related physical fitness, glycemic control and endothelial dependent vasodilatation in type 2 diabetes patients.

Research Hypotheses

Interval aerobic training would yield more favorable adaptations than continuous aerobic training in improving biological variables, health-related physical fitness, glycemic control and endothelial dependent vasodilatation in type 2 diabetes patients.

Scope of research

1. The participants were the forty-five adults with type 2 diabetes, aged 50-70 years, were recruited from the Diabetes Club, Chulalongkorn Hospital, Bangkok,

Thailand. The participants were randomly allocated in equal numbers, ages and gender ratios into 3 groups;

- Sedentary control group (SED; n=15) (non-exercise)
- Continuous aerobic training (CON; n=15)(Continuous aerobic training program)
- Interval aerobic training group (INT; n=15) (Interval aerobic training program)

2. The variables used in the study include;

2.1 Independent variables were continuous aerobic training and interval aerobic training.

2.2 Dependent variables were

- Biological variables as to body weight, body mass index, resting heart rate, systolic blood pressure and diastolic blood pressure.

- Health-related physical fitness variables as to fat mass, body fat, muscle mass, waist-to-hip ratio, muscular strength, maximal O₂ consumption and body flexibility.

- Blood biochemistry variables as to fasting blood glucose, glycosylated hemoglobin, insulin, total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, triglyceride, malondialdehyde, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, nitric oxide and von Willebrand factor.

- Cutaneous blood flow variables as to resting cutaneous blood flow, maximal cutaneous blood flow and ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow.

- Brachial characteristics variables as to baseline brachial diameter, peak brachial diameter, flow-mediated dilatation, time to peak diameter, shear rate at resting diameter and peak shear rate.

Operational definition

Interval aerobic training is an activity that raises the body's demand for oxygen. In this study, the interval aerobic training is performed on treadmill at high intensity of

oxygen consumption alternated with low intensity of oxygen consumption. The ratio of high intensity duration to low intensity duration is 4:1.

Continuous aerobic training is an activity that raises the body's demand of oxygen. In this study, the continuous aerobic training is performed on treadmill at constant intensity of oxygen consumption.

Glycemic control is an ability of cells to control blood sugar and glycosylated hemoglobin.

Endothelial function is an ability of endothelial cells to control vascular tone (Vasoconstriction/ Vasodilatation) and coagulation process.

Endothelial dysfunction is dysregulation of endothelial cells to control vascular tone (Vasoconstriction/ Vasodilatation) and coagulation process.

Endothelial dependent vasodilatation is an ability of blood vessels to dilate vascular tone through endothelial function which can measure by the change of vascular diameter.

Expected benefits and applications

1. To understand the comparative effects between continuous aerobic training and interval aerobic training on biological variables, health-related physical fitness, glycemic control and endothelial dependent vasodilatation in type 2 diabetes patients.

2. To provide an appropriate exercise training program for rehabilitation in patients with type 2 diabetes.

3. To provide physiological knowledges for further studies.

CHAPTER II

LITERATURE REVIEW

This chapter will explore the literature were listed as followd:-

1. Type 2 Diabetes mellitus
 - 1.1 Definition, types and diagnosis of Diabetes mellitus
 - 1.2 Type 2 diabetes: pathogenesis and complications
2. Vascular endothelium
 - 2.1 Endothelial cell functions
 - 2.2 Measurements of endothelial function
 - 2.3 Endothelial dysfunction
3. Oxidant and antioxidant
 - 3.1 Rective oxygen species (ROS)
 - 3.2 Antioxidant
 - 3.3 Type 2 diabetes and oxidant & antioxidant imbalance
4. Exercise
 - 4.1 Principles of exercise training
 - 4.2 Interval aerobic exercise training
 - 4.3 Physical fitness
5. Related literatures
 - 5.1 National literatures
 - 5.2 International literatures
6. Conceptual framework

1. Type 2 Diabetes mellitus

1.1 Definition and types of Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus is the most common metabolic disease worldwide. As of 2010, an estimated 285 millions people in the world suffer from this disease (Williams text Book of Endocrinology, 12th ed., 2011). The synonym and abbreviation for diabetes mellitus are including “diabetes” and “DM”. Diabetes is related to the abnormal glucose metabolism causing hyperglycemia. The causes of diabetes are insulin insufficiency and increased in insulin resistance (Shoback, 2011). The classic symptoms of diabetes are loss of weight, polyuria, polydypsia and polyphagia. Diabetes increase the risk of long-term complications. The majority of complications are related to endothelial dysfunction and damage to the blood vessels causing vascular insufficiency, tissue or organ infarction and gangrene (The Emerging Risk Factors Collaboration, 2010). Diabetes doubles the risk of cardiovascular diseases and cerebrovascular diseases, and also causing chronic renal failure (diabetic nephropathy), blindness (diabetic retinopathy), and gangrene of the extremities. The pathogenesis of diabetes are included genetics and environmental factors. American diabetes association (2007) classify diabetes into 4 categories: type1, type 2, gestational diabetes, and other specific types diabetes.

Type 1 diabetes (Insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM, juvenile-onset diabetes). This type of diabetes usually found in children and young-age individual and related to autoimmune mechanism that destroy B-cells (insulin producing cells) in the pancreas. This autoimmune usually triggered by initial virus infection. The antibodies to the virus cross reactivity to the human pancreatic B-cells and destroyed B-cells. The serum level of insulin in IDDM is markedly decreased, and the severe hyperglycemia developed. As the results from severe insulin insufficiency, the patients develop hyperglycemia, hypertriglyceridemia, polydipsia, polyuria, polyphagia, severe weight loss, and finally develop ketosis or ketoacidosis.

Type 2 diabetes (Non-insulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM, adult-onset diabetes) usually found in obese individuals with more than 35 years of age. This type of diabetes is related to insulin resistance, a condition in which cells fail to use insulin properly, or may combine with insulin insufficiency. This type of diabetes is a slow progressive and may not related to clinical symptoms of polydipsia, polyuria, and weight loss. The definition of type 2 diabetes is the fasting blood glucose level of more than 126 mg/dl (7.0 mmol/L). This type of DM is not related to autoimmunity and the severity of disease is less than IDDM. The defective responsiveness of body tissues to insulin is believed to involve the insulin signaling, insulin receptor, and glucose transporter. This type of DM is usually not related to B-cell destruction and the serum insulin level usually normal or high. NIDDM is associated with obesity and over weight. Exercise training can control body fat and body weight, in turn, results in decrease blood glucose level.

Gestational Diabetes Mellitus (GDM) is a hyperglycemic condition in pregnant woman, occurs in about 2%-5% of all pregnancies. This type of DM results from a combination of inadequate insulin secretion and insulin response. About 20% - 50% of affected women develop type 2 diabetes later in life. Fetus delivered from GDM mother usually has a high birthweight (embryopathy diabetica), severe hypoglycemia and has high morbidity and high mortality.

Other Specific Types of Diabetes Mellitus (maturity-onset diabetes mellitus in the young, MODY) is the type of DM found in individuals with less than 25 years of age, and inherited by autosomal dominant trait. There is a defective in insulin secretion from B-cells of pancreas. The serum insulin level is less than normal but the insulin reactivity is normal. This is the rare type of DM.

Diabetes is characterized by persistent hyperglycemia, and is diagnosed by demonstrating any one of the following (American Diabetes Association, 2007) :

- Fasting plasma glucose level \geq 126 mg/dl (7.0 mmol/L)
- From oral glucose tolerance test, plasma glucose level \geq 200 gm/dl two hour after a 75g oral glucose load
- Symptoms of hyperglycemia and casual plasma glucose \geq 200 gm/dl

- Glycosylate hemoglobin (HbA1c) \geq 6.5%

1.2 Type 2 diabetes: pathogenesis and complications (Stumvoll et al., 2005)

Type 2 diabetes is related to insulin resistance, a condition in which cells fail to use insulin properly, or may be combined with insulin insufficiency.

In normal subjects (Figure 2.1), the cellular events via which insulin initiates its stimulatory effect on glucose metabolism start with binding of the hormone to specific receptors that are present on the muscle cell surface. The binding of insulin activates the insulin receptor and the activated insulin receptor generates signals (insulin signaling) that activate a cascade of phosphorylation-dephosphorylation reactions that eventually result in the stimulation of intracellular glucose metabolism. The first step in glucose metabolism involves activation of the glucose transport system, glucotransporter-4 (GLUT4), leading to glucose influx into muscle cells. The free glucose, which has entered the cell, subsequently is metabolized by a series of enzymatic steps that are under the control of insulin. Of these, the most important are glucose phosphorylation (catalyzed by hexokinase II), glycogen synthase (which controls glycogen synthesis), and phosphofruktokinase (PFK) and pyruvate dehydrogenase (PDH) (which regulate glycolysis and glucose oxidation, resp.). For type 2 diabetes subjects (Figure 2.2), abnormalities of binding of insulin and insulin receptor, insulin signaling pathway and glucose transport system are observed. These lead to insulin resistance and hyperglycemia.

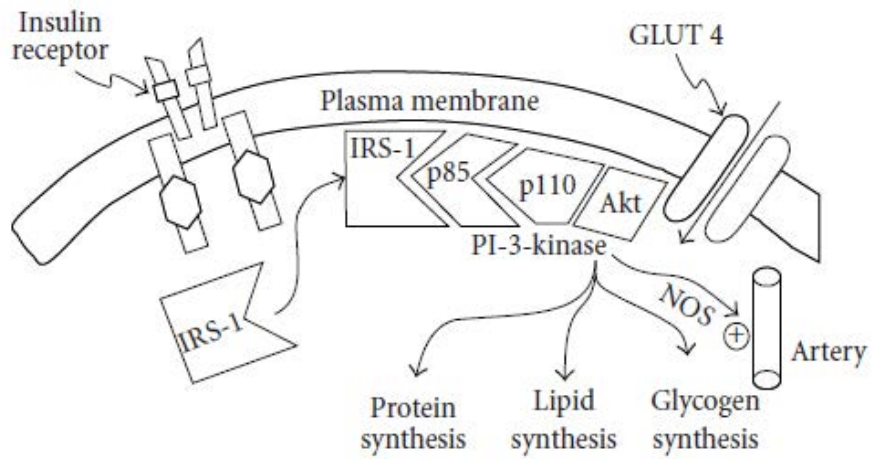


Figure 2.1 Insulin signal transduction in normal subjects (Abdul-Ghani and DeFronzo, 2010)

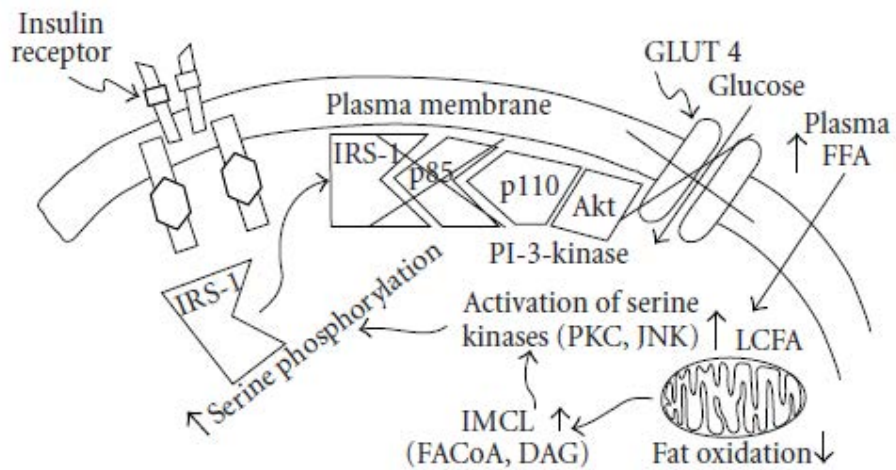


Figure 2.2 Insulin signal transduction in type 2 diabetes subjects (Abdul-Ghani and DeFronzo, 2010)

. The major long-term complications of type 2 diabetes relate to damage to blood vessels. Diabetes doubles risk of cardiovascular disease, the main “macrovascular” diseases, such as ischemic heart disease, atherosclerosis of the aorta, cerebrovascular disease, and peripheral vascular disease. Diabetes also damages the small vessels and capillaries causing microvascular diseases such as diabetic retinopathy and diabetic nephropathy (Figure 2.3).

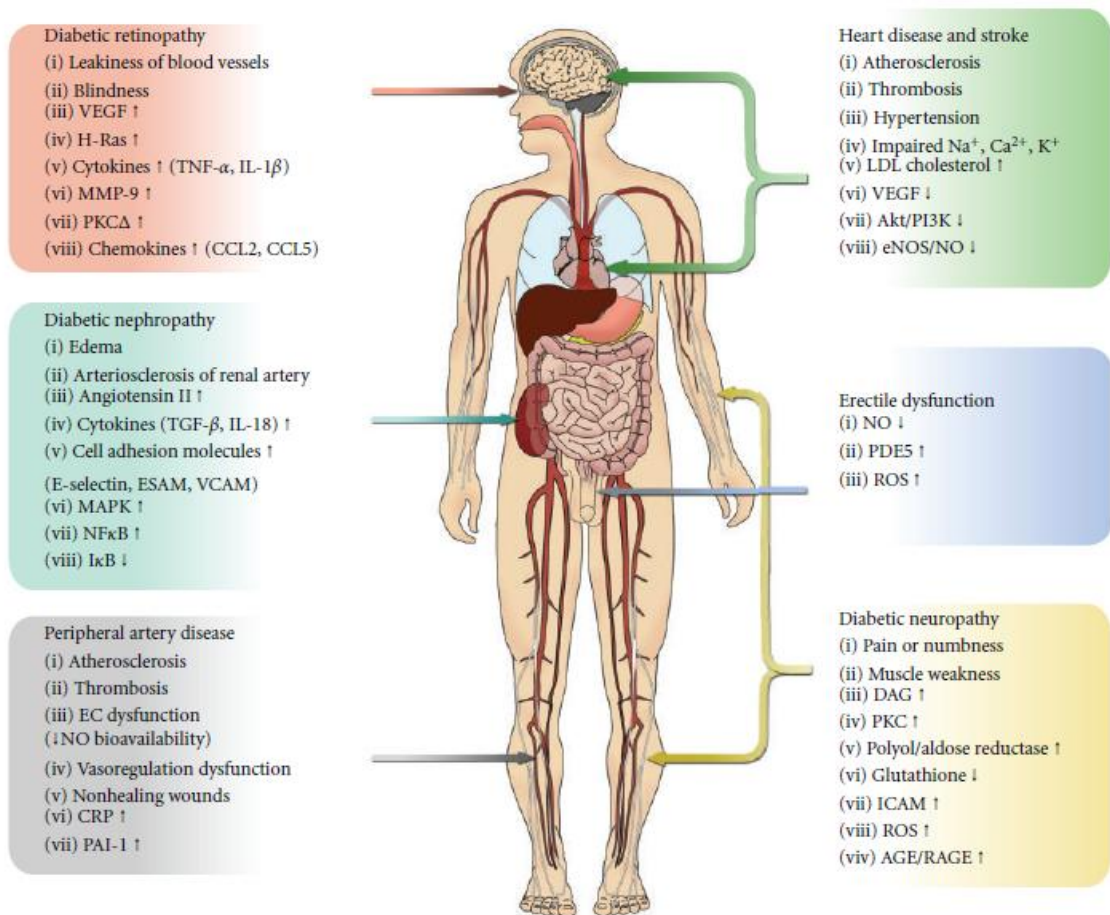


Figure 2.3 Complications in type 2 diabetes subjects from diabetic vascular disease (Kolluru et al., 2011).

Prospective and meta-analysis studies of type 2 diabetic patients revealed increase in risk of cardiovascular diseases as compared to non-diabetics with the relative risk of 2.58 in female and 1.85 in male. The cohort study of the type 2 diabetic patients also showed increase in mortality rate as compared to non-diabetic with the relative risk of 2.5 in female and 1.1 in male (Jax TW et al., 2009; Mitchell RN et al., 2010). Cardiovascular death in diabetics accounted for 46% while it was 42% in the general population. The DECODE study from the European countries also confirmed the increase in mortality rate in individuals with abnormal glucose tolerance test with the relative risk of 1.4 (DECODE, 1999). Many factors that contribute to the pathogenesis of cardiovascular disease in diabetics are included hyperglycemia, hyperlipidemia, increase in insulin resistance, hypertension and endothelial injury.

Hyperglycemia is one of the factors that related to the pathogenesis of atherosclerosis. Cardiovascular death in diabetics was significantly increased in the patients with HbA1c of more than 7%. The Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) (Purnell JQ et al., 2013), in type 1 diabetic patients showed that the well-controlled blood glucose level retarded the complications: retinopathy, nephropathy, neuropathy, upto 35% to more than 70%. The United Kingdom Prospective Study (UKPDS), (Stratton IM et al., 2000), confirmed the similar results in patients with type 2 diabetes, and also showed improvement in microvascular endpoint upto 25%. Molyneaux et al. (1998) performed a study on type 1 and type 2 diabetics and found that there was a linear relationship of retinopathy and microalbuminuria to the plasma HbA1c levels. Each 10% decrement of HbA1c level decreased the incident of retinopathy 24% and microalbuminuria 9% in type 2 diabetes; and 35% and 25% in type 1 diabetes, respectively. This study confirmed that the decrement of blood glucose level improves the diabetic complication.

Insulin resistance is the abnormal physiologic condition that is found mainly in type 2 diabetes and may occurs for many years preceeding the onset of diabetes. Insulin resistance increases risks of cardiovascular disease, cerebrovascular diseases, systemic hypertension, and decreases serum level of HDL cholesterol. A study which

was conducted regarding to the research question of whether insulin resistance in type 2 diabetes was an independent factor to predict the pathogenesis of cardiovascular pathology (Bonora et al., 2002). They performed insulin resistance study by the homeostasis model assessment (HOMA) in 1,780 cases of type 2 diabetics, average age of 64 years and average onset of diabetes of 9 years. At baseline, 33% of the subjects showed cardiovascular disease. After 52 months follow-up, additional 11% of the remaining subjects developed cardiovascular diseases. This study has shown that age, sex, smoking, hypertension, ratio of serum total cholesterol to HDL cholesterol and insulin resistance (log-HOMA-IR) were independent factors for the pathogenesis of cardiovascular pathology. The increment of log-HOMA-IR for 1 unit increased risk of 3% and increased predictive prevalence of 56%. In conclusion, insulin resistance is an independent factor to predict the pathogenesis of cardiovascular disease.

Low serum level of HDL cholesterol significantly increased risk of cardiovascular diseases (Preis et al., 2013). There are conflicting reports concerning hypertriglyceridemia and cardiovascular disease. Preis et al. (2013), has shown that hypertriglyceridemia may be an independent factor for the pathogenesis of cardiovascular diseases with the relative risk 1.7 ($p=0.04$). The Helsinki Heart Study (Manninen et al., 1992) showed that individuals with hypertriglyceridemia in combined with high LDL/HDL cholesterol ratio increased risk of cardiovascular diseases (relative risk 3.8), while individuals with hypertriglyceridemia and normal LDL/HDL cholesterol ratio did not show increase in cardiovascular diseases risk. Majority of the type 2 diabetic patients show hypertriglyceridemia, high level of LDL cholesterol and low level of HDL cholesterol. These combination may contribute to the pathogenesis of cardiovascular diseases. It is well known that LDL cholesterol can penetrate vascular endothelium into the subendothelial area, stimulates phagocytosis by macrophages and forming foamy macrophage and fatty streak. This is the early event in the pathogenesis of atherosclerosis. Endothelial dysfunction, inflammation, platelets adhesion and aggregation, smooth muscle cell proliferation and migration, thrombosis and calcification are later events of atherosclerotic formation in cardiovascular disease.

Abnormal lipid metabolism is related to insulin resistance and is a major factor for atherosclerotic formation in type 2 diabetes.

Type 2 diabetics usually associated with increase in insulin resistance and has a high serum level of insulin (hyperinsulinemia). Hyperinsulinemia is a risk for hyperlipidemia, hypertension and cardiovascular diseases. The UKPDS study (Stratton et al., 2000) showed that the well-controlled hypertensive type 2 diabetic patients decreased the risk of diabetes-related endpoint by 24%, diabetes-related death by 32%, stroke by 44%, microvascular disease by 37% and congestive heart failure by 56%. This indicates the increase in the cardiovascular risk in diabetic patients.

Long-time duration of diabetes increases risk of cardiovascular disease in the progressive pattern. Nurses Health Study (Al-Delaimy et al., 2001) showed the increase in cardiovascular risk prior the onset of detectable type 2 diabetes. Long-term follow up showed increase in risk upto 5 times as compared with the healthy control. Cerebrovascular disease risk was increased upto 2.8 times. The Framingham Heart Study (D' Agostino et al., 2008) showed the increase in cardiovascular death, 86% increase, in the 10-year follow up of patients with type 2 diabetes.

2. Vascular endothelium

Vascular endothelium is a simple squamous cells, monolayer cells, that lined inside the lumen of vessel in the mosaic pattern. Endothelial is estimated to be about 5% of total body weight. These cells contained pinocytic vesicles and numerous fenestrations. The fenestration is a pore across both sides of cell membrane and the size is about 50 nm. In the pathologic conditions, the pore size may be up to 500-1,000 nm. At the luminal surface of the endothelial cell expresses variety of surface adhesion molecules and cell membrane receptors which are including LDL receptor, insulin receptor and histamine receptor. Activation of endothelial cell by various stimuli is responsible for the pathogenesis of many vascular disease. These stimuli include bacterial and virus antigens, lipid products, complement products, cytotoxins, and

hypoxemia. Activated endothelial cells produce vasodilators (NO, prostacyclin), vasoconstrictors (ACE, prostaglandin H₂, thromboxane A₂), growth factors, and molecules that control intravascular coagulation. Beneath the endothelial cells of the vascular lumen is a basal lamina (basement membrane), subendothelial matrix, inner elastic membrane, smooth muscle cells (tunica media), outer elastic membrane, and tunica adventitia, respectively.

2.1 Endothelial cell functions

1. The barrier function of the endothelium acts as a semi-selective barrier between vascular lumen and surrounding interstitial space, controlling the passage of fluid, electrolytes, chemicals, in and out between vascular space and interstitial space.

2. Target cells for mediators, hormones, cytokines to respond to the inflammatory process and self immunity.

3. Act as hemostasis (thrombosis and fibrinolysis) in the lumen of blood vessel.

4. Formations of new blood vessels (angiogenesis) and vascular proliferation.

5. Control of vascular tone, vasodilation and vasoconstriction, for controlling of systemic blood pressure.

6. Endothelial cells can synthesize and secrete growth factors for cellular proliferation

Endothelial cell by itself can synthesize nitric oxide, prostacyclin, prostaglandin H₂, thromboxane A₂, endothelin-1, and angiotensin II.

Endothelin: Endothelins are polypeptides which are synthesized from the endothelial cells and cause vasoconstriction. There are three isoforms of endothelin.

Endothelin 1 is a substance mainly released from vascular endothelium and small amount is released from the smooth muscle cells in the vascular wall.

Endothelin 2 is synthesized from kidney, small intestine, heart muscle and uterus. The action of endothelin 2 is unclear.

Endothelin 3 is found mostly in the brain tissue and the action is also unclear.

Nitric oxide (NO): This substance is previously called “endothelium-derived relaxing factor (EDRF)”. The endogenous NO production is synthesized from L-arginine, molecular oxygen, NADPH and other cofactors by the enzyme nitric oxide synthase (NOS).

Nitric Oxide Synthases; NOS (Knowles and Moncada, 1994). These enzymes have many isoforms and at least three isoforms in human have been clarified.

Brain NOS; or so-called neuronal NOS (bNOS, ncNOS, NOS I). This isoform is detected in brain tissue, peripheral nervous system and striated muscle.

Macrophage NOS (mNOS, macNOS, iNOS, NOS II). This isoform is found mainly in all human nucleated cells, especially macrophages. This isoenzyme does not require calcium ion (Ca^{2+}) for the nitric oxide synthesis.

Endothelial NOS (eNOS, ecNOS, NOS III) is the isoenzyme found mainly in the endothelial cells, and small amount is found in platelets, neutrophils and neurons in hippocampus. This isoenzyme attached to the cell membrane (membrane bound enzyme) and this process is called myristation (isoenzyme NOS I and NOS II are soluble protein in the cytoplasm). Myristation is believed to related to the shearing force and causes NO production. Nitric oxide stimulates vasodilation, platelets aggregation and platelets activation.

The balance of vascular tone at the resting state depends on vasoconstricting chemicals and vasodilating chemicals. The vasoconstricting chemicals are endothelin-1, angiotensin II and thromboxane A₂. The vasodilating chemicals are NO, prostacyclin and hyperpolarizing factor. Of these, NO is the most potent vasodilator in arteries, large-sized veins, small blood vessels (microcirculation), and has no effect on the peripheral veins and small-sized veins. Nitric oxide production is under control of autoregulation and the autonomic nervous system. For the autoregulation, ischemia (except pulmonary blood flow), reperfusion, and increase in shearing stress in the blood vessel cause increase in NO production. Nitrovasodilator drugs such as sodium nitroprusside and nitroglycerin can cause vasodilation. Both compounds can be directly converted to NO.

2.2 Measurements of endothelial function

There are many parameters for evaluating endothelial function which are including vascular tone evaluation, leukocyte adhesion, mediators production (NO, bradykinin, endothelin), platelet-fibrin thrombus formation, and cell infiltration through the vascular endothelium (exocytosis). In general, there are two methods for endothelial function measurement: non-invasive method and invasive method.

Non-invasive method: A non-invasive method to measure endothelial dysfunction is high-frequency ultrasound Flow-Mediated Vasodilation (FMD) (Thijssen et al., 2011). The test is performed on the brachial artery, provokes the release of NO, resulting in vasodilation that can be quantitated as an index of vasomotor function (Corretti M et al, 2002). And also laser doppler flowmetry is a technique for measurement cutaneous blood flow. Low-power laser light is throughed the skin via optical fibre

Invasive method: This measurement is performed by venepuncture and get the blood sample for chemical analysis. These chemicals are included von Willebrand factor (vWF).

vWF is a plasma glycoprotein, produced in endothelial cells, megakaryocytes and subendothelial connective tissue (Sadler, 1998). Its function involves in hemostasis (Lip et al., 1997). In normal condition, factor VIII (coagulation factor) is bound to vWF while inactive in circulation; factor VIII degrades rapidly when not bound to vWF. When there is endothelial (vascular wall) injury and exposed subendothelial matrix, vWF from the injured endothelial cell and subendothelial matrix stimulates platelet adhesion (figure 2.4, 2.5). Platelet glycoprotein complex (GPIb/IX/V) which is the surface antigen of platelet adhered to the subendothelial matrix by the action of vWF. After platelet adhesion to the injured vascular wall, platelet activation and aggregation developed and followed by the coagulative process in the lumen of blood vessel (Lip et al., 1997). Increase in plasma vWF is a good indicator for endothelial dysfunction (Badimon et al., 1993).

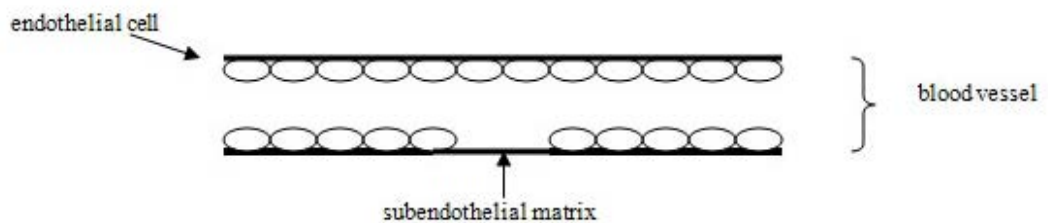


Figure 2.4 The injured vascular wall (Lip et al., 1997)

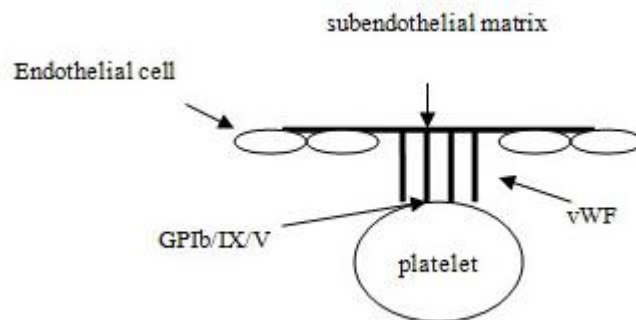


Figure 2.5 von Willeband factor (vWF) and platelet (Lip et al., 1997)

The gold standard for measuring endothelial function is angiography with acetylcholine injection which is an invasive and complex method and is not routinely used in clinical trial. Ultrasound Flow-mediated vasodilation (FMD) is an alternative procedure which is a non-invasive technique, and is believed to reflect endothelial-dependent and largely nitric oxide-mediated vascular function and has been used as a marker of vascular health (Thijssen et al., 2010). There are serious flaws in measurements of endothelial function with FMD which involve the percentage change in diameter as the selected statistic. There is a negative correlation between percent flow mediated dilation and baseline artery size, but this has only recently been recognized as a fundamental scaling problem, showing that peak diameter does not change as a

constant proportion of baseline diameter. This dependence of percent FMD on baseline diameter can lead to biased estimates of endothelial function. A major challenge of FMD is also the variability across centers and the requirement of highly qualified technicians to perform the procedure.

For the FMD measurement, the diameter of brachial artery was measured by high-resolution external vascular ultrasound in response to an increase in blood flow causing shear-stress during reactive hyperemia (sphygmomanometer cuff inflation and then deflation). The brachial artery was scanned and the diameter measured during two conditions; at baseline, and after the cuff deflation. The time for inflation was 3-5 minutes and the second measurement was performed 3-5 minutes after the cuff deflation. The inflation pressure was 50-100 mmHg over the systolic blood pressure.

Laser Doppler flowmetry (Morales et al., 2005) is a non-invasive technique for measurement cutaneous blood flow. Low-power laser light is throughed the skin via optical fibre. The light scattered within the skin is detected by another optical fibre (i.e., a detecting fibre) and is conveyed to a photodetector. Part of the light interacts with moving blood, and will undergo a frequency shift that can be explained by the doppler effect. This signal interferes, at the detector, with non-Doppler-shifted light from static tissue, and the resulting intensity fluctuations are processed. The values obtained for the perfusion, the flux, are calculated from the frequency-weighted (ω) power spectrum, $P(\omega)$, of the intensity fluctuations normalised with the intensity squared.

Post occlusive reactive hyperemia (PORH) method is applied to increase blood flow (causing shear-stress) during reactive hyperemia (sphygmomanometer cuff inflation and then deflation) (figure 2.6).

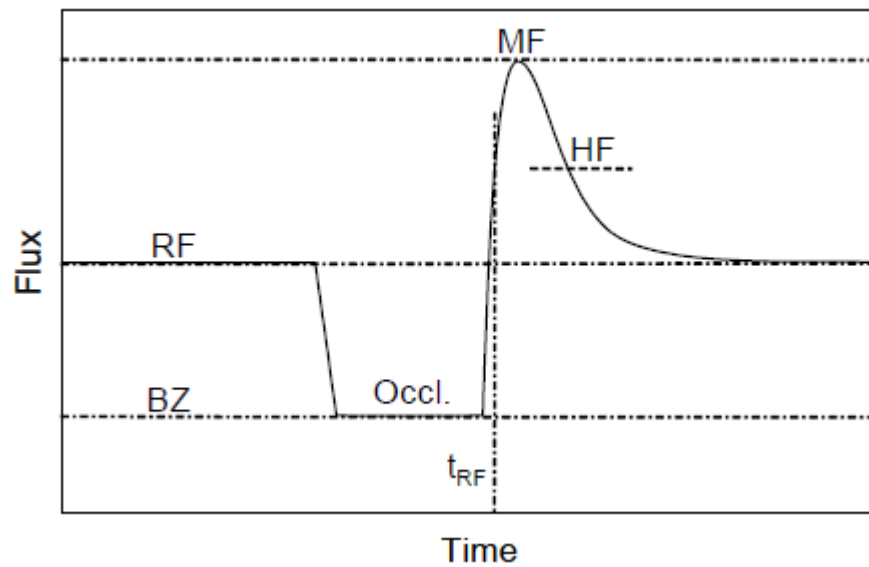


Figure 2.6 Cutaneous blood flow at different period: resting flow (RF), occlusion period (Occl.), maximum flow (MF) (Morales et al., 2005)

2.3 Endothelial dysfunction

The endothelial injury is the pathologic change which is classified into denudation injury and non-denuded injury.

Denudation injury is a state that the endothelial cells are damaged, cell death, and slough-off from the vascular wall. This condition cause complete destruction of the endothelial function.

Non-denuded injury is an injury that cause endothelial dysfunction and the endothelial cells are still viable. There is no change in light microscopic examination but there is pathologic changes in the ultrastructure which is examined by the electron microscope.

In general, the major role of endothelial function is to control the vascular tone by releasing of vasodilators and vasoconstrictors. NO is a potent vasodilator, inhibits smooth muscle contraction, proliferation, and migration. NO is also inhibit platelets aggregation, inflammation, and thrombus formation. One of the potent vasoconstrictor is angiotensin II. This compound cause smooth muscle cell contraction, inflammation, and vascular damage (Hsueh and Quinones, 2003). Endothelial dysfunction is an

imbalance between vasoconstrictors and vasodilators, mainly from the decrease in NO production which is the major pathogenesis of atherosclerosis.

As mentioned above, endothelial dysfunction or endothelial cell dysfunction (ECD) implies an imbalance between vasoconstrictors and vasodilators of the blood vessel endothelium. ECD is known to be one of the major factors for the pathogenesis of severe degenerative vascular disease, "Atherosclerosis". ECD disturbs vascular proliferation, angiogenesis (new blood vessel synthesis), which resulted in poor tissue perfusion and delayed wound healing. ECD also interferes cell adhesion and diapedesis (exocytosis) which are essential for the inflammatory process (Goligorsky MS, 2005). In diabetes, hyperglycemia and its related complications: hypertension and hyperlipidemia, are believed to be the causes of ECD.

A recent review article (Kollura GP et al, 2012) (figure 2.7) has summarized the signaling mechanisms of diabetes-mediated hyperglycemia leading to ECD by showing that hyperglycemia causes mitochondrial dysfunction, eNOS uncoupling, and decrease in eNOS synthesis. Mitochondrial dysfunction increases free radical and oxidative stress and resulted in ECD. An alternative effect of hyperglycemia is the decrements of P13K and Akt, combined with eNOS uncoupling and oxidative stress, resulted in the decrease in NO bioavailability and production, and finally developed insulin resistance and terminated to ECD.

Hyperglycemia in type2 diabetes causes endothelial cell injury and followed by the inflammatory process. The NO production from the endothelial cell decreased because of increased in reactive oxygen species and advanced glycosylated end product; AGE (Gutterman et al., 2005). The endothelial cell injury and reduction in NO production resulted in the development of cardiovascular pathology and interfered with the healing process in patients with type 2 diabetes (Hamed et al., 2011).

Hyperglycemia plays a pivotal role in the development of microvascular complications, but the actual effect of hyperglycemia on the endothelial cells remains unclear and even some what controversial, particularly in type 2 diabetes (Duckworth, 2001). There are many proposed theories concerning effects of hyperglycemia on

endothelial dysfunction include activation of sorbital pathway, increased cytokines production, oxidative stress, AGE and AGE precursors, and non-enzymatic glycosylation of structural proteins. Collectively, the mechanism of action of hyperglycemia on the endothelial cell is not yet clearly defined, but there are some evidences support that hyperglycemia may play an important role in endothelial dysfunction, especially microvascular complications.

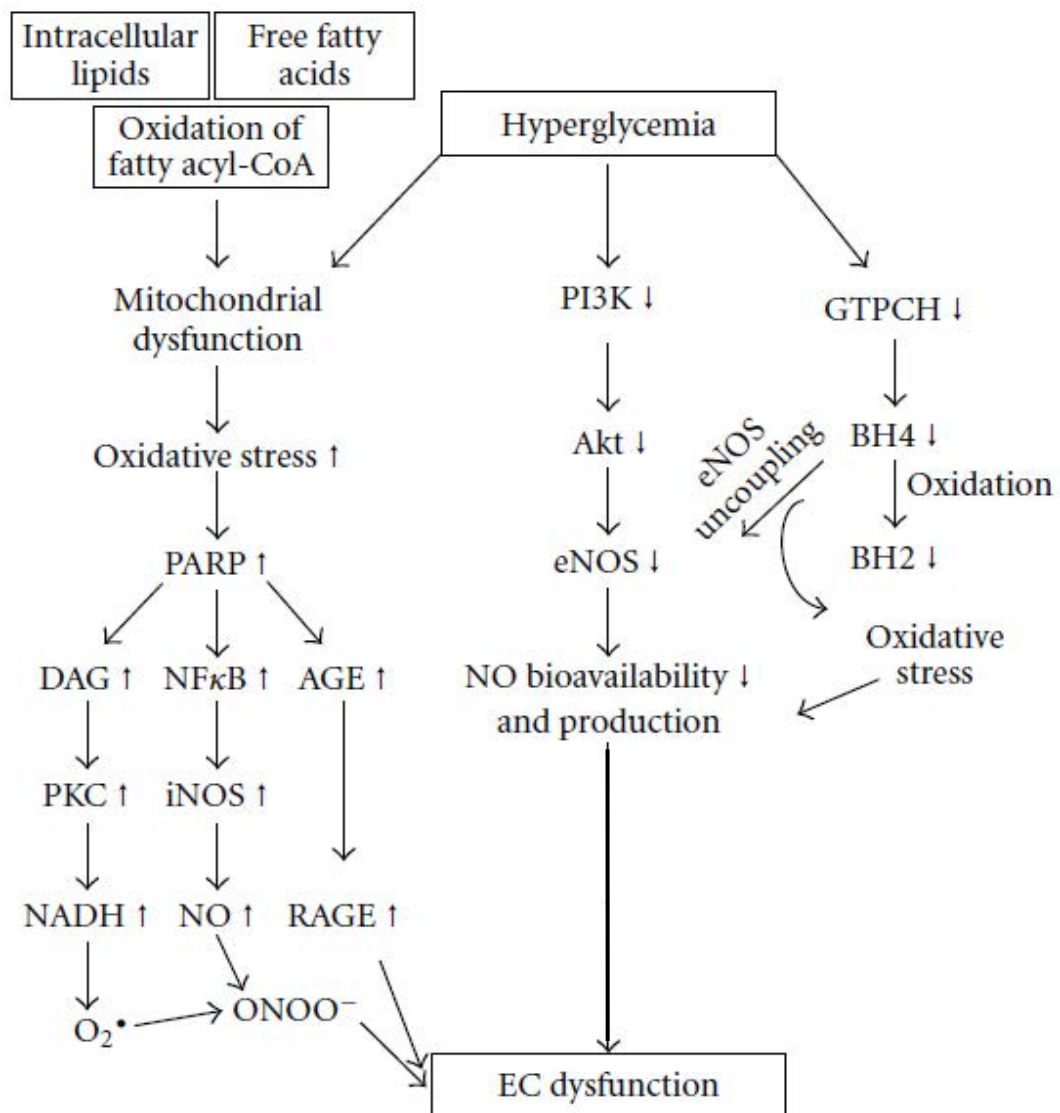


Figure 2.7 Hyperglycemia leading to endothelial dysfunction (Kolluru et al., 2011)

3. Oxidants and antioxidants

Free radical or it is called "radical" is an atom or molecule of organic or inorganic compound, or free ion, that has one unpaired electron in their outer most of the orbit, and may has one or more swinging covalent bonds (Lip et al., 1997). Free radical is in the unstable status and if it receive additional electron, it will turn to the stable status. Most of the free radical is very sensitive to the chemical reaction in both organic and inorganic compounds and causes damage to protein, lipid, carbohydrate, especially damage to the mitochondria, cell membrane, and nucleus of cell. Figure 2.8 shows the cell injury which is casued by free radical. Free radical also can cause damage to nucleic acid, in turn, cause DNA damage and mutation and potentially lead to malignancy. Excess free radial cause oxidative stress and resulting in aging process, cardiovascular diseases (atherosclerosis), and degenerative diseases such as Alzheimer disease. Some of free radicals are necessary for life, such as for bacteriocidal process in macrophage. Some of the natural and biological free radicals are in inactive form. Free radical does not have electrical charge, but radical ions, radical cation and radical anion, show electrical charges. Cellular free radicals may derive from radiation, oxidation from the cellular metabolism, and the cellular catabolic process. Biological free radicals are classified into 3 groups: reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS), and reactive chloride species (RCS).

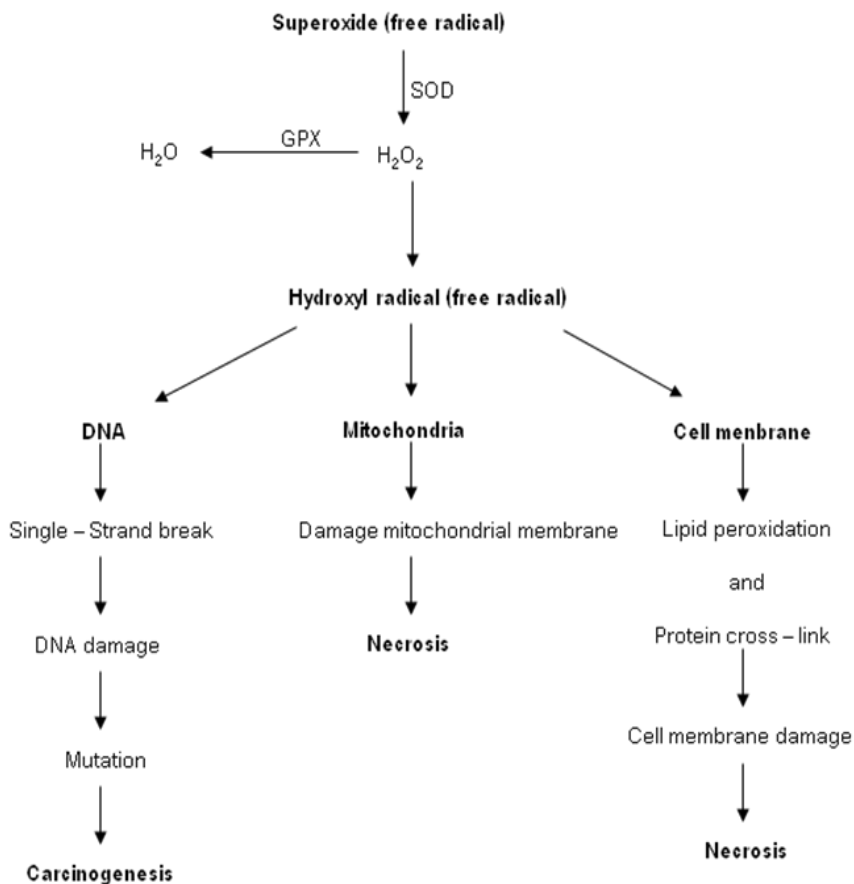


Figure 2.8 Free radicals and cellular injury (SOD=superoxide dismutase, GPX = glutathione peroxidase)

(The Basic Pathology, second edition, Winyou Mitarnun Editor; 1997:41)

3.1 Reactive oxygen species (ROS)

ROSs or oxidants are species such as hydrogen peroxide, superoxide, and hydroxyl radical. Oxidative stress causes damage to the membranal polyunsaturated fatty acid (lipid peroxidation) leading to the generation of malondialdehyde (MDA) (Pryor WA, Stanley JP, 1975). MDA, an organic compound with the formula $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$, is a highly reactive and toxic compound and is used as a biomarker to measure the level of oxidative stress (Del Rio D et al., 2005).

Most reactive oxygen species are generated as by-products during mitochondrial electron transport. In addition ROS are formed as necessary intermediates

of metal catalyzed oxidation reactions. Atomic oxygen has two unpaired electrons in separate orbitals in its outer electron shell. This electron structure makes oxygen susceptible to radical formation. The sequential reduction of oxygen through the addition of electrons leads to the formation of a number of ROS including: superoxide; hydrogen peroxide; hydroxyl radical; hydroxyl ion; and nitric oxide. (Figure 2.9).

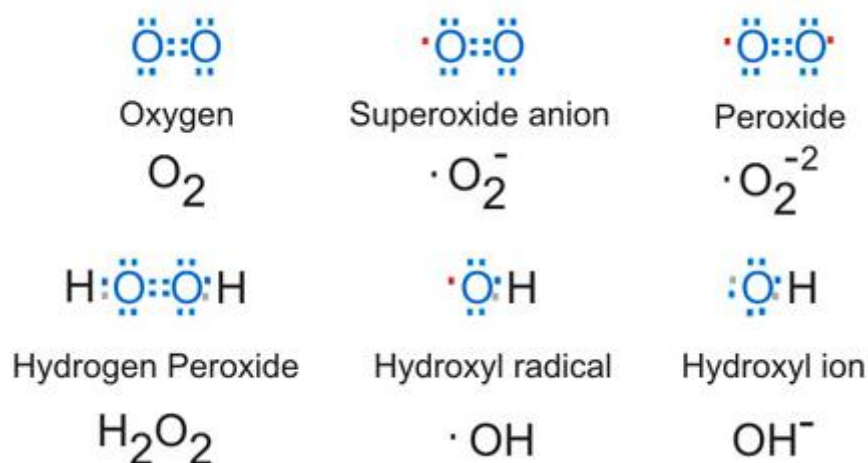


Figure 2.9 Electron structure of reactive oxygen species

(The Basic Pathology, second edition, Winyou Mitarnun Editor; 1997:41)

3.2 Antioxidant

A variety of natural antioxidants exist which scavenge ROS and prevent oxidative damage to biological membranes. These include vitamins A, C, and E and carotenoids. Enzymatic antioxidants include glutathione peroxidase (GPX), superoxide dismutase, and catalase (Sies, 1997). The biological function of GPX is to reduce lipid hydroperoxides and hydrogen peroxide. So far, eight different isoforms of GPX have been identified in humans (Wassman et al., 2004).

Superoxide dismutases (SOD) are enzymes that catalyze the dismutation of superoxide into oxygen and hydrogen peroxide. They are an important defense in cells exposed to oxygen (figure 2.10). Three forms of SOD are present in humans. Copper zinc SOD (Cu Zn SOD) is called SOD1 located in the cytoplasm, manganese SOD

(MnSOD) is called SOD2 located in the mitochondria, and finally extracellular SOD (ecSOD) is called SOD3 located in the extracellular matrix. The genes are located in chromosome 21q22.1, 6q 25.3, 4p/15.3-15.1, respectively.

Glutathione peroxidase (GPX) is an enzyme family with peroxidase activity whose main biological role is to protect cells from oxidative damage, to reduce lipid hydroperoxides to alcohols, and to reduce hydrogen peroxide to water (figure 2.10). Eight isoforms of GPX are called GPX1 to GPX8, respectively. Human proteins contain GPX1 to GPX5.

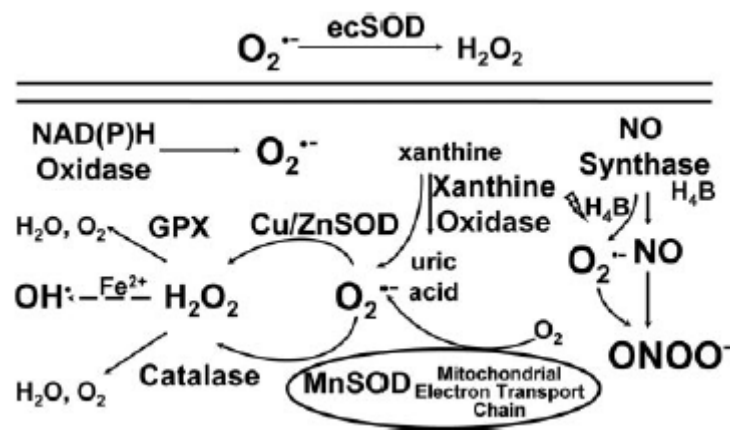


Figure 2.10 Interaction of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX)

(Wassmann et al., 2004)

3.3 Type 2 diabetes and oxidant & antioxidant imbalance (Nobar, 1999)

In diabetic patients an altered balance between reactive oxygen species production and antioxidant levels has been reported. Decreased activity of the antioxidant enzymes and depletion of total antioxidant capacity may increase the susceptibility of diabetic patients to oxidative injury. Appropriate support for enhancing antioxidant supplies may help to prevent clinical complications of diabetes mellitus. In view of low activities of the SOD and GPX in diabetic patients it was concluded that

supplementary trace elements such as Selenium, Copper, Zinc and Manganese, the essential components of the enzymes structures may be useful in preventing the development of diabetic complications.

4. Exercise

4.1 Principles of exercise training

The principle of exercise training is included warming up, stimulation, and relaxation (American College of Sports Medicine, ACSM, 2006). The warm-up period benefits BMI adjudgement, stabilized blood flow and control of heart rate. The stimulation period is to perform exercises which could be aerobic training or resistance training. The relaxation period is for eliminate of waste products that occurs during catabolism of the muscles.

A warm-up is usually performed before participating exercising. It is a gradual increase in intensity in physical activity. The warm-up benefits physical and mental fitness which includes increase in heart rate, increase in body temperature, decrease blood viscosity, dilation of capillaries, increase muscle metabolism, improve nerve impulse conduction and to remove lactic acid from the body. The warm-up period is designed to performed approximately at 50% intensity about 5-15 minutes and is adjusted individually.

Exercise program (ACSM, 2006) usually divides into three stages; initiation stage, improvement stage and maintainance stage. The initiation stage is performed at the 40% of VO_2 max for 12-40 minutes. The time and intensity are increased in the improvement stage (usually not in the first week), and at the maintainance stage, the intensity reach 60-75% of VO_2 max for 30 minutes with a frequency of 3 days per week. After each exercise training, cooling down period is necessary. Cooling down is an easy exercise that will allow the body to gradually transition from exertional state to a resting state and allow the heart rate to return to its resting state. Durations can vary individually, but 5-10 minutes is considered adequate.

The American Diabetes Association (2013) exercise guidelines recommend type 2 diabetic patients to perform at least 150 minutes per week of moderate to vigorous aerobic exercise (50%-70% of VO_2 max) to achieve optimal cardiovascular disease risk reduction. Uncomplicated type 2 diabetics are also recommended to perform resistance exercise, especially performs on the large muscle groups, 3 days per week, 3 sets per day, and 8-10 repeats per set.

Aerobic exercise consists of rhythmic, repeated, and continuous movement of the same large muscle groups for at least 10 minutes at a time, The intensity of aerobic exercise will be described as “moderate” when it is at 40%-60% of VO_2 max (50%-70% of maximum heart rate) and “vigorous” when it is at more than 60% of VO_2 max (Sigal et al., 2004). The yields of aerobic exercise in type 2 diabetes depend on the duration and intensity (Sigal et al., 2007).

For hyperglycemic control, the volume of exercise usually more than 150 minutes per week with a moderate intensity. For the cardiovascular disease risk control, the exercise should be more than 4 hours per week with moderate to vigorous intensity, and for the body weight control, should be more than 7 hours per week with moderate to vigorous intensity.

4.2 Interval aerobic exercise training

Traditional aerobic exercise is a continuous exercise with the constant intensity. Interval aerobic exercise involves bouts of high exercise intensity (15 s to 4 min; $>90\%$ VO_2 max) followed by a recovery period (40-50% VO_2 max) of equal or longer duration than the associated work interval. Earnest (2008) made a hypothesis that interval aerobic exercise provided a more power stimulus to positively modulate abnormal glucose metabolism in individuals with pre-diabetes than traditional aerobic exercise program. The improved glycemic control in diabetes by interval aerobic exercise may be related to the improved insulin, insulin-stimulated glucose transport (Frosig et al., 2007), and/or the increased glucose transporter 4 (GLUT-4) protein (Christ-Roberts et al, 2004). The large improvement in glycemic control in pre-diabetes and type 2 diabetes is

not fully understood. It might be related to the improved mitochondrial function after interval aerobic exercise. Previous study has shown that PGC1 alpha, a critical coordinator for activation of metabolic genes require for substrate utilization and mitochondrial biogenesis, in vastus lateralis muscle of patients with the metabolic syndrome was increased by 138% with interval aerobic exercise, but not with moderate continuous exercise (Tjonna et al., 2008). PGC1-alpha stimulated a powerful induction of RNF1 and NRF2 gene expression which stimulated GLUT-4 synthesis (Wu et al, 1999; Barr et al, 2002). Total SIRT1 content, a proposed activator of PGC1-alpha and mitochondrial biogenesis, was increased by ~56% following low volume high intensity interval aerobic exercise and also increased total GLUT 4 protein content in patients with type 2 diabetes (Little et al., 2001).

Enzyme indicators for mitochondrial biogenesis is PGC1-alpha; for glycolysis are hexokinase and phosphofructokinase; for tricarboxylic cycle in mitochondria are acetyl – CoA, citrate synthase, maleate dehydrogenase; and for fatty acid beta-oxidation is beta-hydroxyacyl CoA dehydrogenase. The improvements of these above enzymes activity in interval aerobic exercise training in individuals with type 2 diabetes and pre-diabetes is believed to correspond to the improvement of glycemic control, as shown in Figure 2.11

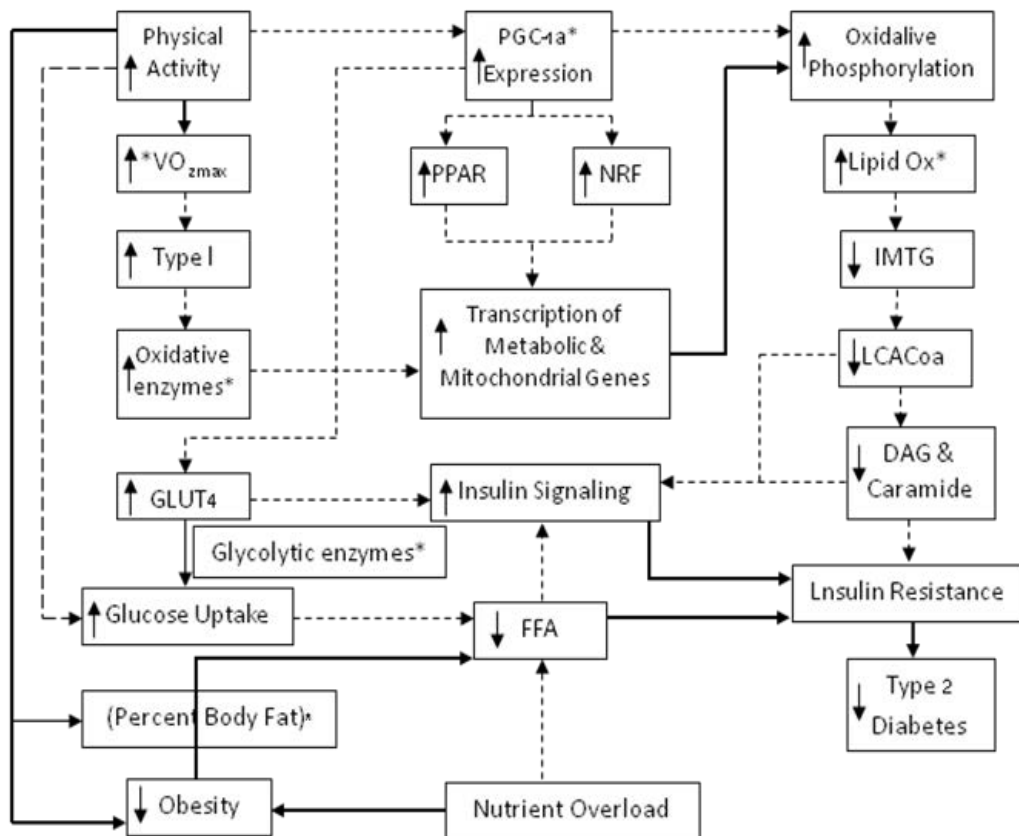


Figure 2.11 Hypothesized improvements in glycemic control of patients with type 2 diabetes. (Earnest, 2008)

4.3 Physical fitness (ACSM, 2006)

Physical fitness is defined as the capacity of individuals to control and carry out the immediate daily activity without undue fatigue. Physical fitness also has been defined as a set of attributes or characteristics that individuals have or achieve that relates to the ability to perform physical activity without undue fatigue, and having reserve energy for emergency usage and having spare time for enjoy living. Howley and Frank that provides additional descriptive information is: Physical fitness is a state of well-being with low risk of premature health problem and energy to participate in a variety of physical activities.

Physical fitness comprises two related concepts: health-related physical fitness and skill related physical fitness.

Health related physical fitness has five parameters: body composition, muscular strength, muscular endurance, flexibility and cardiopulmonary endurance. Skill related physical fitness composes of 10 parameters: body composition, muscular strength, muscular endurance, flexibility, cardiopulmonary endurance, power, speed, agility, reaction time and balance and coordination.

Body composition is used to describe body weight, lean body mass, body fat, bone, muscle, and other tissues in human bodies. Body composition can be measured in several ways such as hydrostatic weighing, dual-energy x-ray absorptionmetry (DEXA), skinfold caliper, and bioelectrical impedance analysis (BIA) by using BIA analyser.

Muscular strength is the measure of how much force the muscles can exert, which is measured by the isometric such as hand grip dynamometer, back and leg dynamometer, and isokinetic dynamometer. A one repeated maximum (1-RM) is the test to determine maximum muscular strength.

Muscular endurance is the ability of muscle or groups of muscles to sustain repeated contractions against a resistance for an extended period of time. The measures for muscular endurance are sit-up, push up, pull down, flex arms hang by using isokinetic dynamometer.

Flexibility refers to the absolute range of movement in a joint or series of joints and length in muscles that cross the joints. The direct method for measuring flexibility is by goniometer/flexometer and the indirect method is by sit and reach test.

Cardiorespiratory endurance refers to the ability of the cardiovascular and respiratory systems to supply oxygen to the skeleton muscles during sustained physical activity and is included the ability of muscle to utilize oxygen effectively. VO_2 max or maximal oxygen consumption is the maximal amount of oxygen one is able to use during performing exercise. The tests for cardiorespiratory endurance are Bruce

treadmill protocol, Balke treadmill protocol, bicycle ergometer exercise test protocol, and submaximal exercise test.

5. Related literatures

5.1 National literatures

Chakraphan et al. (2002) studied the effects of vitamin C supplementation and exercise training on the diabetic endothelial dysfunction (ED). Male Sprague-Dawley rats were divided into five groups of control (Con), diabetes (DM), diabetes with supplemented vitamin C (DM+Vit.C), diabetes with exercise- trained (DM+Ex) and diabetes with supplemented vitamin C and exercise- trained (DM+Vit.C+Ex) groups. The results showed that either 12 and 24 weeks (wk), blood glucose (BG), glycosylated hemoglobin (HbA1C), arterial blood pressure (BP), heart weight (HW) and plasma triglyceride (Trig) were significantly higher and lower in plasma vitamin C levels in DM rats. In DM+Vit.C rats, the plasma vitamin C levels and HbA1C were significantly increased ($P < 0.05$). However, BP were decreased in DM+Vit.C rats. Whereas DM+Ex rats had reduced the abnormalities of BP and HW when compared with DM rats and had a significant decrease in heart rate compared to Con rats. To examine the effects of vitamin C supplementation and exercise training on ED, leukocyte-endothelial cell (EC) interaction in mesenteric venules and vascular reactivity response to vasodilators in mesenteric arterioles were monitored using intravital fluorescence microscopy. It was found that the diabetic state enhanced leukocyte adhesion and impaired vasodilatory response to the EC-dependent vasodilator, Ach, either 12- and 24- wk. The increase of leukocyte adherence was attenuated by supplemented with vitamin C and exercise training. The impaired vascular reactivity to Ach was found to be attenuated by supplemented vitamin C. However, it failed to improve the impairment of EC-dependent vasodilation by exercise training. In addition, vitamin C and training were also shown to have favorable effects on oxidative stress and antioxidant status. DM rats had significantly higher in malondialdehyde (MDA) level and lower activity of superoxide

dismutase (SOD) than Con rats. However, the MDA levels in DM+Vit.C and DM+Ex were significantly lower than those of DM rats and there were no significant differences in SOD activity among DM+Vit.C and DM+Ex compared to Con group. Moreover, the decreased eNOS protein in DM rats was prevented by vitamin C supplemented. Interestingly, we found the combined protective roles of supplemented with vitamin C and exercise training in DM+Vit.C+Ex group as well. They showed the more beneficial influence both in cardiovascular fitness and endothelial function in diabetic rats.

Mitranun et al. (2009) studied the effects of interval aerobic training with integration of resistance training on health-related physical fitness and endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus. Thirty one type 2 diabetic patients with ages between 60-70 years, fasting blood sugar 125-140 mg/dl and HbA1c 6.5-10 % were divided into 4 groups: control group (C; n=8), aerobic interval training group (AI; n=8), resistance training group (R; n=7) and aerobic interval with integration of resistance exercise training (AIR; n=8). Basic physiological information, health-related physical fitness, biochemical blood value and cutaneous blood flow of every subject were evaluated before and after 12 weeks of training. The results were as follow: In AI group: fat mass, %fat, waist/hip ratio, fasting blood sugar, glycosylated hemoglobin (HbA1c), homeostatic model assessment for insulin resistance (HOMA-IR), cholesterol, low density lipoprotein (LDL) and malondialdehyde (MDA) were significantly lower ($p<.05$) than before the experiment and those after the experiment of C group. Muscle mass, muscle strength, maximal oxygen consumption (VO_2max), high density lipoprotein (HDL) and whole glutathione peroxidase (wGPX) were significantly higher ($p<.05$) than before the experiment and those after the experiment of C group. In R group: fat mass, HOMA and LDL were significantly lower ($p<.05$) than those before the experiment. Muscle strength, HDL and glutathione peroxidase (GPX) were significantly higher ($p<.05$) than those before the experiment of the R group. In AIR group: fat mass, waist/hip ratio, fasting blood sugar, HOMA, LDL, triglyceride and von willebrand factor were significantly lower ($p<.05$) than before the experiment and those after the experiment of C group. Muscle strength, VO_2max , GPX, wGPX and maximum

cutaneous blood flow/resting blood flow were significantly higher ($p < .05$) than before the experiment and those after the experiment of C group.

Leelayuwat et al. (2008) studied the effect of arm swing exercise on glycaemic control and oxidative stress in subjects with type 2 diabetes. The 2-month exercise program was a 30 min, three times a week. The result showed significantly decrease in HbA1c and increase in insulin sensitivity in exercised group

5.2 International literatures

There were about 5,500 publications in English literature that conducted exercise training on patients with type 2 diabetes, and only about 20 of them were performed by interval aerobic exercise training. Majority of the reports confirmed benefits of the exercise training in both physical fitness and quality of life. The followings are some reports concerning some aspects of our research.

La Civita et al. (1997) studied the subcutaneous vascular dilation by using iontophoresis in 11 patients with vascular occlusion (systemic sclerosis, scleroderma) and 16 healthy controls, age and sex matched. Laser Doppler flowmetry skin blood flow was evaluated of baseline and postischemic hyperemia test and during iontophoretically transcutaneous application of acetylcholine and sodium nitroprusside. The results showed no significant differences in basal skin blood flow were detected between patients and controls. The ischemic response was significantly less pronounced in patients compared with controls. Moreover, among patients a lower vasodilatory response to acetylcholine compared with ischemia and sodium nitroprusside was recorded. The authors suggested the endothelial dysfunction in patients with systemic sclerosis.

Caballero AE et al. (1999) conducted a study on microvascular and macrovascular reactivity in subjects with type 2 diabetes. They divided subjects into 4 groups; 30 healthy subjects with no family history of diabetes (controls), 39 healthy subjects with family history of diabetes (relatives), 32 subjects with abnormal glucose tolerance test, and 42 subjects with type 2 diabetes without vascular complication

(diabetes). Laser Doppler perfusion imaging was used to measure vasodilation, and the measurements of endothelin-1 and von Willebrand factor. This study showed defects in macrovascular and microvascular circulations in diabetes group and relative group with significantly increased in endothelin-1 and von Willebrand factor. The study suggests that abnormal vascular reactivity and biochemical marker of endothelial activation are present in diabetes and early in individuals at risk of developing type 2 diabetes.

Stratton IM et al. (2000) studied the association of glycemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes. This prospective observational study was conducted in 23 hospitals in England, Scotland, and Northern Ireland, and there were 3,642 samples in this study. The results showed the incidence of clinical complications was significantly associated with glycemia. Each 1% reduction of HbA1c was associated with reductions in risk 21% for any end point related to diabetes, 21% for deaths related to diabetes, 14% for acute myocardial infarction, and 37% for microvascular complications.

Maiorana A et al. (2001) studied the effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes. The study was conducted on 16 patients with type 2 diabetes. Patients were randomized to an 8-week exercise or non-training. The results showed significantly increased in flow-mediated dilation following exercise training. Endothelium-dependent vasodilation was enhanced in both conduit and resistance vessels.

Dunstan DW et al. (2002) studied the effect of high-intensity resistance training on the glycemic control in 36 patients, aged 60-80 years, with type 2 diabetes. Subjects were randomly allocated to either a high-intensity progressive resistance training plus moderate weight loss group (n=19), or a moderate weight loss group plus control program (control, n=17). The results showed significant decrease in HbA1c in exercised group than control group at the 3 months and 6 months assessments. There were no between-group differences for fasting blood glucose, insulin levels, serum lipids and lipoprotein. The authors concluded that high-intensity progressive resistance training, in

combination with moderate weight loss, was effective in improving glycemic control in elderly patients with type 2 diabetes.

Middlebrooke et al. (2006) performed a study on microvascular function after a 6-month aerobic exercise in 59 patients with type 2 diabetes. The microvascular function was assessed as the maximum skin hyperemia to local heating and endothelial and non-endothelial responsiveness following the iontophoretic application of acetylcholine and sodium nitroprusside. The 6-month exercise program was a 3 min, three times a week, 70-80% of maximal heart rate. The result showed that there was no improvement of microvascular function in the exercise group compared with the control group.

Cohen et al. (2008) examined the effect of a 14-month progressive resistance training on endothelial function in both a supervised training group and non-supervised training group of a total of 28 patients with type 2 diabetes. Endothelial function testing was performed through laser Doppler flow responses in the skin microcirculation of acetylcholine and sodium nitroprusside. They also measured weight, blood pressure, and HbA1c level at 0, 2 and 14 months. The results showed vascular response was significantly increased at 14 months compared with baseline in both groups. However, no between-group differences were observed. There was a strong correlation between HbA1c at baseline and vascular response at 14 months which suggests that glycemic control may be an important factor in long-term regulation of endothelial function.

Sigal et al. (2007) performed a comparative study of aerobic training, resistance training, and combined aerobic and resistance training on glycemic control in subjects with type 2 diabetes, aged 39-70 years, for 22 weeks. The results showed that either aerobic training or resistance training alone improved glycemic control, but the improvements were greatest with combined aerobic and resistance training.

Wisløff et al. (2007) performed a randomized comparative study of aerobic interval training versus moderate continuous training in 27 heart failure patients with average age of 75 years; left ventricular ejection fraction 29% and VO_2 peak 13 ml/kg/min. The subjects were divided into 3 groups: aerobic interval training, moderate

continuous training, and controls, with a training program of 3 times per week for 12 weeks. The results showed significant increase in VO_2 peak in aerobic interval training group as compared to the moderate continuous training group and was associated with reverse left ventricular remodeling. Left ventricular end-diastolic and end-systolic volumes declined only in aerobic interval training group. Improvement in brachial artery FMD (endothelial function) was greater with aerobic interval training and mitochondrial function (measure of PGC1-alpha) increased only in aerobic training group. No changes occurred in the controls.

Tjønnå et al. (2008) performed aerobic interval training and continuous moderate exercise training, 3 times per week for 12 weeks, in 32 patients with metabolic syndrome, average age of 52 years. The results showed superior improvements with aerobic interval training in enhancing endothelial function, insulin signaling in fat and skeleton muscle, skeleton muscle biogenesis, and excitation-contraction coupling and in reducing blood glucose and lipogenesis in adipose tissue

Praet et al. (2008) performed a study of short-term (3 times per week for 10 weeks) resistance training and interval exercise training in 11 patients with complicated and insulin-treated type 2 diabetes. The results showed significant improvements in muscle strength, maximal workload capacity, mean arterial blood pressure, fasting blood glucose, and daily exogenous insulin requirement. There was no change in HbA1c, VO_2 peak, and tumor necrosis factor-alpha (inflammatory marker).

Marcus et al. (2008) performed a comparative study of combined aerobic and high-force eccentric resistance exercise (AE/RE), and aerobic exercise (AE) only in 15 patients with type 2 diabetes, average age of 58 years, for 16 weeks. The results showed significant decrease in HbA1c in both groups and no difference among group. The improvements of intramuscular fat and body mass index were observed in both groups. The improved thigh lean tissue was observed only in AE/RE group.

Myer et al. (2013) performed a randomized controlled trial of exercise training and quality of life in 262 patients with type 2 diabetes, 9-month exercise trainings: aerobic training, resistance training, combined aerobic/resistance training, and

sedentary controls. They studied HbA1c levels and quality of life (QOL) by using Short Form-36 Health Survey questionnaire before and after exercise training. The results showed QOL physical component subscale and general health subscale were improved in all three exercised groups compared with controls. The resistance training group had the most beneficial changes in bodily pain, whereas physical functioning was most improved in the aerobic and combined training groups. The changes in the mental component score did not differ between controls and exercised groups. The combined training group had greater gains than aerobic training group in mental component score, vitality, and mental health, and greater gains in vitality compared with the controls. They conclude that exercise improves quality of life in type 2 diabetes with greater benefit in combined aerobic/resistance exercise.

6. Conceptual Framework

From the above-mentioned literature review, This study was outlined possible courses of action in figure 2.12

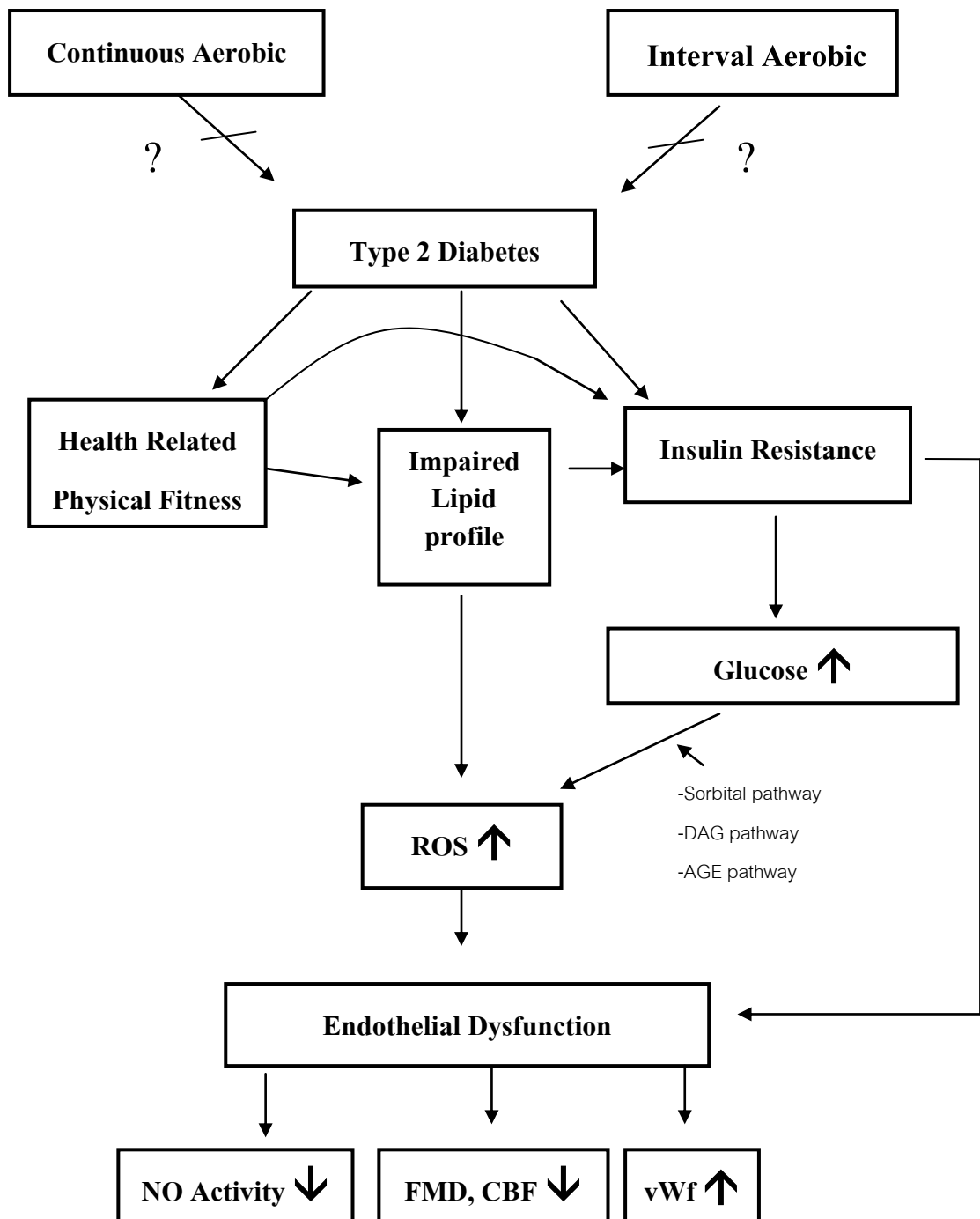


Figure 2.12 Conceptual framework. The underlying mechanisms in continuous and interval aerobic training are currently unknown in patients with type 2 diabetes.

CHAPTER III

METHODOLOGY

The purpose of this study was to investigate a comparison between the effects of continuous and interval aerobic training on glycemic control and endothelial dependent vasodilatation in type 2 diabetes patients. The experimental protocols were divided into 2 parts the exercise protocols construction and the assessment of effect of exercise. This study was approved by the Institutional Review Board, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Thailand, COA No. 516/2012 (Appendix A).

Sample group

Forty-five adults with type 2 diabetes (16 males and 29 females) aged 50-70 years were recruited from the Diabetes Club, Chulalongkorn Hospital, Bangkok, Thailand. The participants were randomly allocated according to ages and gender ratios into three groups with an equal number of subjects; control (non-training), interval aerobic training (INT) and continuous aerobic training (CON).

Sampling

The sampling consisted of two steps. The first step was sampled from population to be a representative sample (random selection) (Figure 3.1). The second step was sampled from sample to be control group and exercise groups (random assignment) (Figure 3.2).

The first sampling was randomly stratified by age and gender to eliminate confounding variable. The stratified random sampling was described as follows:

A = male with type 2 diabetes aged 50-60 years.

B = male with type 2 diabetes aged 60-70 years.

C = female with type 2 diabetes aged 50-60 years.

D = female with type 2 diabetes aged 60-70 years.

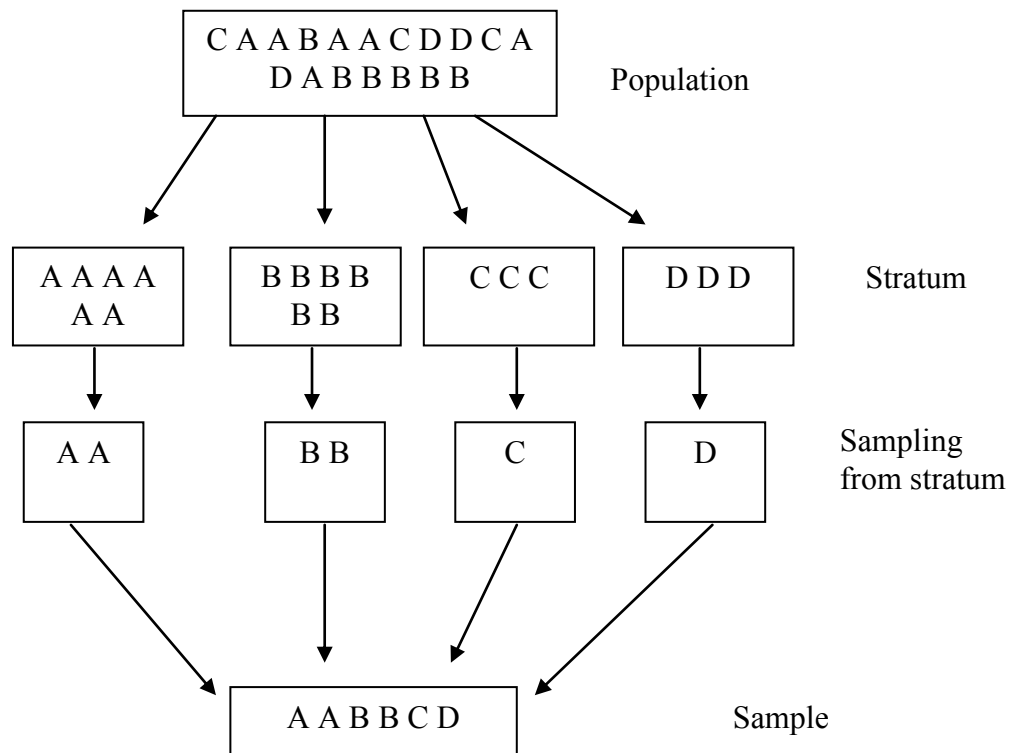


Figure 3.1 Random selection

The second step of sampling was assigning subjects to be either control group or exercise groups. The random assignment of subjects in control group and exercise groups help to ensure that the groups will be as alike as possible at the beginning of the experiment (homogeneous).

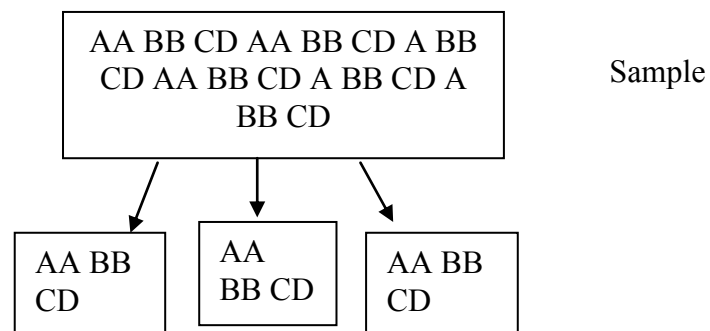


Figure 3.2 Random assignment

Inclusion criteria

1. All participants were patients with type 2 diabetes (as defined by the American Diabetes Association, 2007) and a baseline glycosylate hemoglobin (HbA1c) value of 7% to 9% (moderate severity) (James et al. 2002).
2. All participants were sedentary and non- previous (6 months) exercise training
3. All participants were screened by physical activity readiness questionnaire (PAR-Q) (Appendix B) and general health questionnaire (Appendix C). They were free from diabetic nephropathy, diabetic retinopathy, severe diabetic neurophathy, severe cardiovascular disease and severe cerebrovascular disease under approval of attending physicians.
4. All participants were non-smoker and without any supplement.
5. All participant received information sheet for research participant (Appendix D) and signed the imform consent (Appendix E).

Exclusion criteria

- 1, The participants were sick or injured.
2. The participants were not willing to continue in the experiment.
3. The participants completed less than 80% of the training schedule.

Data collection

A 12-week intervention took place at fitness center, the Faculty of Sport Science, Chulalongkorn University. All participants (control, INT, CON) reported to the laboratories 2 days prior to the intervention. On the first day, after 8-hour of overnight fasting, the venous blood sample was collected from the ante-cubital vein. After having breakfast for 2 hours, the participants were asked to perform health-related physical fitness assessment. Cutaneous blood flow and brachial characteristics data were performed on the second day. These investigations were repeated in all participants after the finish of exercise intervention.

Instruments

Instrument used in the selection of the sample

1. The patiten/ Participant Information Sheet
2. The Informed Consent Form
3. The Physical Activity Readiness Questionnare (PAR-Q)
4. The general health history questionare

Instrument for exercise training program

1. Treadmill (Landice, UK)
2. Heart rate monitor (Polar, Finland)

Instrument for measuring physiological data variables

1. Body composition analyzer (Inbody, Korea)
2. Digital blood pressure (Omron, Japan)
3. Heart rate monitor (Polar, Finland)

Instrument for measuring blood chemical data variables

1. Centrifugator
2. Freezer -40 °C

Instrument for measuring physical fitness variables

1. cardiopulmonary gas exchange system (Cortex, Metamax 3B: Breath by breath, Germany)
2. Treadmill (Landice, UK)
3. Leg extension machine (Nautilus, USA)
4. Leg curl machine (Nautilus, USA)
5. Chest press machine (Nautilus, USA)
6. Lat machine (Nautilus, USA)
7. Sit and reach box

Study design

The data were collected according to the purposes of this study. The study was divided into 2 parts as follow:

Part I: The exercise protocols construction

1. Literature review and investigation reports concerning exercise in type 2 diabetes patients.

2. Validity and reliability

Components of aerobic training programs assessment forms were conducted. The content and structural validity were determined by Item Objective Congruence (IOC) with 5 experts: Assoc Prof. Dr. Kobkul Tungsinmunkong, Assoc. Prof. Dr. Supamai Soonthornpun, Assoc. Prof. Somnuke Gulsatitporn, Dr. Tossaporn Yimlamai, and Sitha Pongphibool. All items in assessment form that earned IOC scores between 0.6 and 1.00 were approved (Cox and Vargas, 1996) (Appendix F)

For reliability of exercise programs, aerobic training programs were applied in 12 participants with type 2 diabetes: 6 participants for INT and 6 participants for CON. Oxygen consumption was measured 6 times and analyzed by test-retest method and independent t-test to ensure that energy expenditure in each exercise programs is not different

3. Analysis and construction the pattern of exercise (Figure 3.3).

Interval aerobic training is an activity that raises the body's demand for oxygen. In this study, the interval aerobic training was performed on treadmill at high intensity (80-90 % of oxygen consumption) alternated with low intensity (60-70 % of oxygen consumption) (Earnest, 2008). In previous studies, the ratio of high intensity duration to low intensity duration of interval aerobic training was vary i.e. 1:1, 1:2, 1:3, 4:3, 1:4, etc. In this study, we selected the ratio 1:4 which may be safe and efficient for elderly diabetes patients. The interval aerobic training (INT) program was divided into three phases; phase 1 (weeks 1 and 2), phase 2 (weeks 3-6) and phase 3 (weeks 7-12). In phase 1 the participants started with warming up on the treadmill to achieve a 50% the maximum

oxygen consumption (VO_2 peak) within 5 minutes, maintained at this level for 20 minutes, and 5 minutes for cooling down. Phase 1 program consumed 30 minutes per day, 3 days a week for 2 weeks (Figure 3.1). The interval exercise training (INT) program was designed: In the Phase 1, the participants warmed up gradually to achieve a 50% of the peak oxygen consumption (VO_2 peak) within 5 min, maintained this intensity for 20 min, and 5 min for cooling down, giving a total time of 30 min. In the Phase 2, following the same warm-up to reach the 50% of VO_2 peak within 5 min, the participants performed the interval of four 1-min high-intensity exercises at 80% of VO_2 peak with a 4-min low-intensity exercise at 50% VO_2 peak. The exercise session was concluded with a 5-min cool-down period, giving a total session time of 30 min. The average energy expenditure (EE) of exercises was 1.12 L/min (x 4 min/set x 4 sets) at 50% VO_2 peak, 1.77 L/min at 80% VO_2 peak (x 1 min/set x 4 sets), and 1.12 L/min in the warming up and cooling down periods. The total EE in phase 2 was 36.2 L $\{(1.12 \times 4 \times 4) + (1.77 \times 1 \times 4) + (1.12 \times 5) + (1.12 \times 5)\}$. In the Phase 3, all participants performed warming up to achieve a 60% of VO_2 peak within 5 minutes, then performed the interval of six 1-min high-intensity exercise at 85% VO_2 peak with a 4-min low-intensity exercise at 60% VO_2 peak and a 5-min cool-down period, giving a total session time of 40 min. The average EE of exercises was 1.31 L/min at 60% VO_2 peak (x 4 min/set x 6 sets), 1.84 L/min at 85% VO_2 peak (x 1 min/set x 6 sets), and 1.31 L/min for the warming-up and cooling down periods. The total EE in the phase 3 was 53.7 L.

The continuous exercise training (CON) program: In the Phase 1, the participants performed the identical training program to the one that the INT performed. In the Phase 2, after warming up to reach the 61% of VO_2 peak within 5 min, the participants maintained this intensity for 20 min and 5 min for cooling down, giving a total time of 30 min. For the EE, we designed that phase 2 of CON consume equal amount of energy as compared to phase 2 of INT. Our pilot study has shown that at the 61% of VO_2 peak in phase 2 of CON consumed equal amount of energy as compared to phase 2 of INT. In the Phase 3, after warming up to reach the 65% of VO_2 peak within 5 min, then the participants maintained this intensity for 30 min and performed 5-min

cooling down, giving a total time of 40 min. Our pilot study have shown that at the 65% of VO_2 peak in phase 3 of CON consumed equal amount of energy as compared to phase 3 of INT. The total EE in phase 3 was 53.68 L $\{(1.31 \times 4 \times 6) + (1.84 \times 1 \times 6) + (1.12 \times 5) + (1.12 \times 5)\}$.

Part II: The assessment of effect of exercise

1. The participants had been aware of the procedures to perform the testing and data collection and signed the Informed Consent Form.

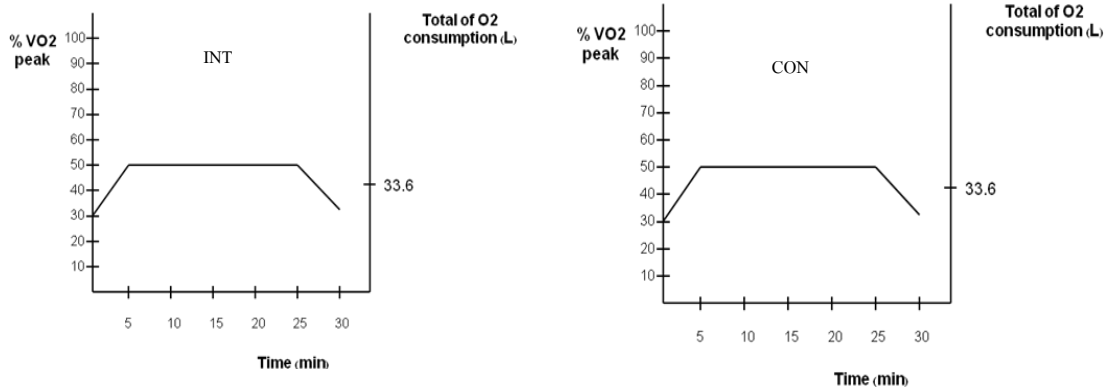
2. The participants were randomly allocated according to ages and gender ratios into three groups with equal number of subjects; sedentary control (SED), interval aerobic training (INT) and continuous aerobic training (CON).

SED: Subjects could do daily life as usual but did not get any exercise program, 15 persons (5 males and 10 females).

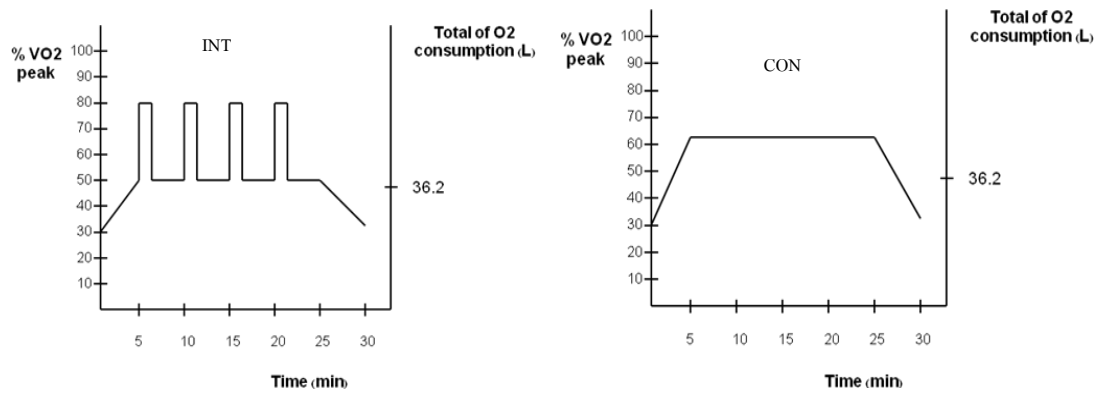
INT: Subjects performed interval aerobic training, 15 persons (5 males and 10 females) (Figure 3.3).

CON: Subjects performed continuous aerobic training, 15 persons (5 males and 10 females) (Figure 3.3).

Phase 1 (weeks 1-2)



Phase 2 (weeks 3-6)



Phase 2 (weeks 7-12)

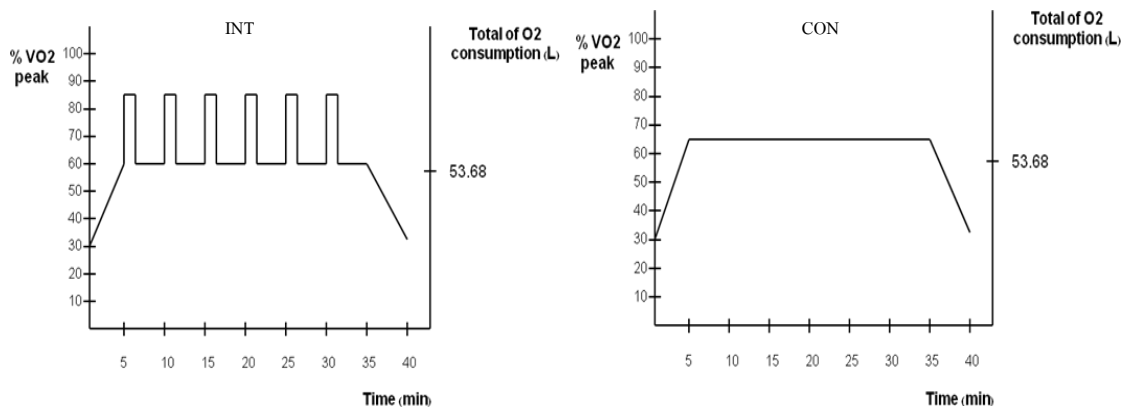


Figure 3.3 Interval aerobic training program (INT) and Continuous aerobic training program (CON)

Parameter Assessment

Biological data, health-related physical fitness data, biochemistry data, cutaneous blood flow data and brachial artery characteristics data were collected at baseline and after 12 weeks (Figure 3.4)

•Biological data (Appendix G)

Resting heart rate

The participants were sitting at least 5 minutes for resting period prior to the measurement. The resting heart rate was measured with heart rate monitor (Polar, Finland)

Resting blood pressure

The participants were sitting at least 5 minutes for resting period prior to the measurement. The blood pressure was measured with digital blood pressure (Omron, Japan). The systolic blood pressure and diastolic blood pressure were recorded in unit of millimeters of mercury (mmHg).

•Health-related physical fitness assessment (Appendix G)

Body composition

Fat mass, body fat, muscle mass and waist-to-hip ratio, was performed by using Body composition analyzer (Biospace, In body 220, Korea).

Muscle strength

Muscle strength was performed with weight machine (Leg extension machine, Leg curl machine, Chest press machine and Lat machine, Nautilus, USA), using one repetition maximum method (1RM). The participants performed to lift the heaviest weight only 1 time.

Flexibility

Sit and reach box was used to assess body flexibility.

Cardiovascular and respiratory fitness

All participants performed walking on treadmill (Landice, UK). Maximal O₂ consumption was assessed by Modified Bruce protocol in which the grade and intensity were increased every 3 minutes until exhaustion.

•Cutaneous blood flow analysis (Appendix H)

Cutaneous blood flow study was performed on all participants on the right wrist with a laser Doppler flowmetry (DRT4 MoorLAB, Moor Instrument, UK), using the post-occlusive reactive hyperemic method. All participants rested in the supine position for 20 minutes. Baseline data was monitored for 1 min and then placed the cuff around the right upper arm, inflated rapidly to 200 mmHg for 5 minutes and deflated for 5 minutes of recovery (Betik et al. 2004). Blood flow data at baseline and after deflated cuff at maximal blood flow were collected.

•Brachial artery characteristics data (Appendix H)

Brachial artery characteristics data were assessed by ultrasound equipment (CX50, Philips, USA), using occlusion technique on the right forearm. All participant rested in the supine position for 20 minutes. The brachial artery was recorded above the antecubital fossa in the longitudinal plane. Mean blood velocity was collected by using pulsed wave Doppler mode. Shear stress was calculated as shear rate (blood velocity/vascular diameter) (Pyke et al. 2008). Baseline data was monitored for 1 min and then placed the cuff around the right forearm, inflated rapidly 50 mmHg above systolic pressure for 5 minutes and deflated for 5 minutes of recovery (Corretti et al. 2002). Brachial analyzer program (Brachial Analyzer, Medical imaging applications, USA) was used for analyzing vascular diameter.

•Blood collection and analysis

Blood samples were collected and centrifuged at 3500 rpm for 10 min at 4 °C for separation of erythrocyte and plasma. Malondialdehyde (MDA) was measured in erythrocyte with thiobarbituric acid reactive substances (TBAR) method (Appendix I). Superoxide dismutase (SOD) was measured in erythrocyte with assay kit (RANSOD, RANDOX laboratories Ltd., UK) (Appendix J). Glutathione peroxidase (GPX) was measured in erythrocyte with assay kit (RANSEL, RANDOX laboratories Ltd., UK) (Appendix K). Nitric oxide (NO) was measured in plasma with assay kit (Colorimetric nitric oxide assay kit, PromoKine, Germany) (Appendix L).

For fasting blood glucose (FBG), HbA1c, lipid profiles, insulin and von willebrand factor (vWF) studies were measured with standard procedures (enzymatic reference method with hexokinase, immunoturbidity, enzymatic colorimetric test, enhanced chemiluminescence and linked immuno assay method respectively) at Bria Lab, Bangkok, Thailand. Homeostasis model assessment (HOMA), the parameter for insulin resistance, was calculated by using equation of $[\text{FBG (mg/dL)} \times \text{Insulin level (uU/ml)}] / 405$ (Turner et al., 1993).

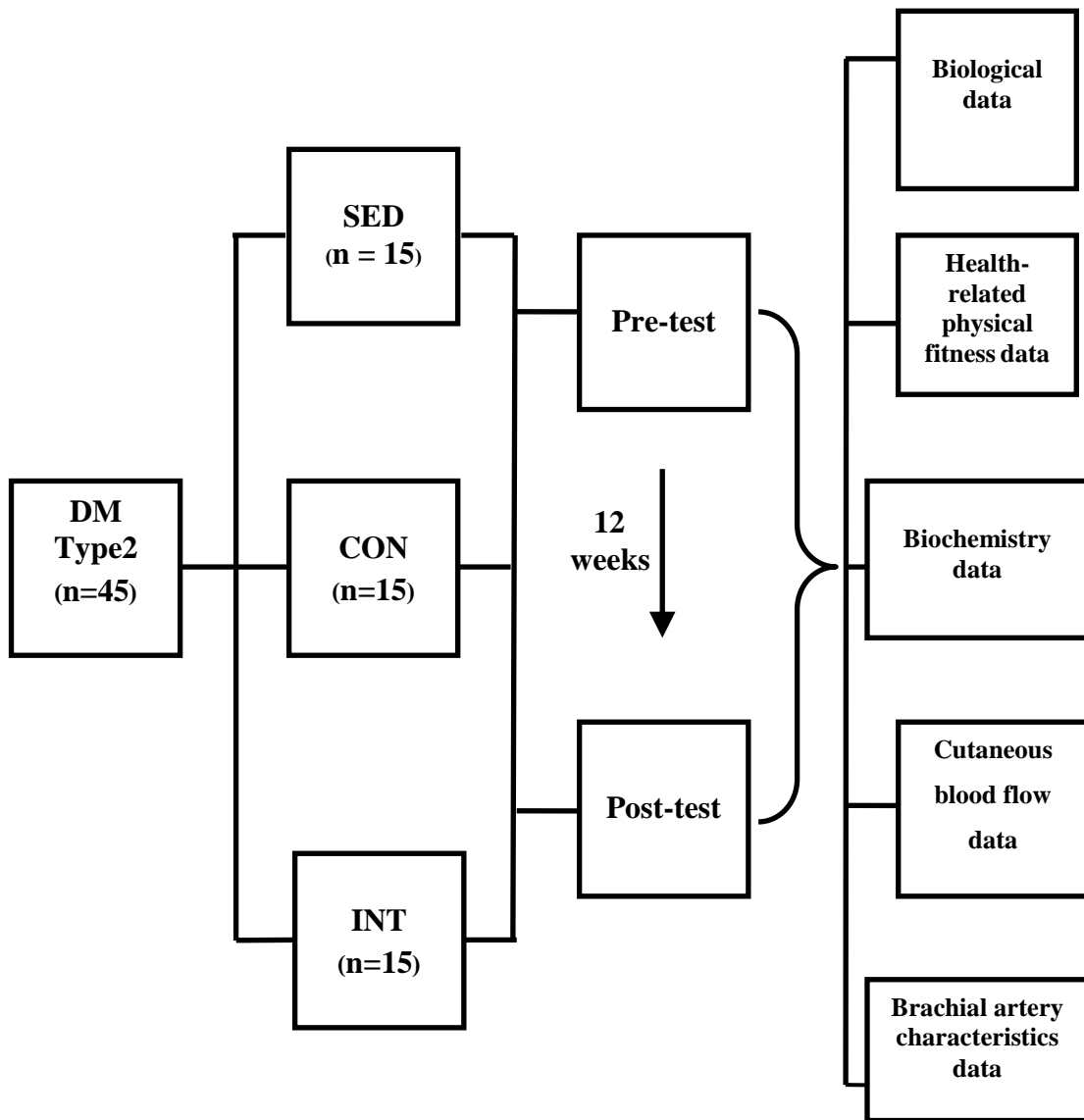


Figure 3.4 Study design

Data analysis

The data including Biological data, health-related physical fitness data, biochemistry data, cutaneous blood flow data and brachial artery characteristics data were expressed as means \pm standard error of mean (SEM). Statistical comparisons between baseline and after 12 weeks were conducted using the paired student's t-test. Two-way analysis of variance (group x time), followed by Tukey's-b multiple comparison was used to determine the significant differences among groups. $P < 0.05$ was considered to be a significant difference.

CHAPTER IV

RESULTS

Forty-five adults with type 2 diabetes (16 males and 29 females) aged 50-70 years were recruited. The remaining after 12 weeks were 15 subjects in sedentary control (SED) group (5 males, 10 females), 14 subjects in continuous aerobic training (CON) group (5 males, 9 females), and 14 subjects in interval aerobic training (INT) group (5 males, 9 females). One subject dropped out in each exercise group by the end of the study. The reasons for withdrawal included physical discomfort and exercise less than 80% of total time. The remaining were 15 subjects in SED group (5 males, 10 females), 14 subjects in CON group (5 males, 9 females), and 14 subjects in INT group (5 males, 9 females). This study consisted of five parts to examine the effects of continuous and interval aerobic training on glycemic control and endothelial dependent vasodilatation in type 2 diabetes patients. These five major parts were as follows:-

Part 1 The comparison of biological data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Part 2 The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Part 3 The comparison of biochemistry data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Part 4 The comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Part 5 The comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Part 1 The comparison of biological data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Table 4.1 shows the comparison of biological data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training. The SED, INT and CON group showed no significant differences between groups in body weight, body mass index, resting heart rate per minute, systolic blood pressure and diastolic blood pressure when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.2 shows the comparison of biological data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training. The data demonstrated that resting heart rate per minute in both INT and CON groups were significantly lower than CON group ($P < 0.05$). However, there were no significant differences in body weight, body mass index, systolic blood pressure and diastolic blood pressure when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.3 shows the comparison of biological data between pre- and post-training in sedentary control group (SED). The SED group showed no significant difference in body weight, body mass index, resting heart rate per minute, systolic blood pressure and diastolic blood pressure between baseline and after 12 weeks.

Table 4.4 shows the comparison of biological data between pre- and post-training in continuous aerobic training group (CON). The CON group had significant decreases ($P < 0.05$) in body weight, body mass index and resting heart rate as compared to baseline. However, there were no significant differences in systolic blood pressure and diastolic blood pressure between baseline and after training.

In table 4.5 shows the comparison of biological data between pre- and post-training in interval aerobic training group (INT). The INT group had significant decreases ($P < 0.05$) in body weight, body mass index, resting heart rate and systolic arterial blood

pressure as compared to baseline. However, there were no significant differences in diastolic blood pressure between baseline and after training.

Table 4.6 and figure 4.1- 4.5 show the comparison of biological data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON). The SED group showed no significant change in all parameters. Resting heart rate per minute in both INT and CON groups were significantly lower than CON group ($P < 0.05$) at after 12 weeks. Both CON and INT group had significant decreases ($P < 0.05$) in body weight, body mass index and resting heart rate as compared to baseline. Only INT group had significant decreases in systolic blood pressure as compared to baseline.

Table 4.1 The comparison of biological data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.

	Pre-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Body weight (kg)	67.7±3.2	65.8±3.1	66.5±3.7	0.11	0.89
Body mass index (kg/m ²)	27.3±1.0	26.9±0.7	26.4±1.0	0.86	0.43
Resting heart rate per minute	83.2±4.9	80.1±3.1	79.6±3.2	1.59	0.22
Systolic blood pressure (mmHg)	130.5±5.4	132.6±5.2	133.1±5.0	0.22	0.80
Diastolic blood pressure (mmHg)	83.3±2.7	81.2±1.5	79.0±2.5	1.77	0.18

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

Table 4.2 The comparison of biological data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training

	Post-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Body weight (kg)	67.1±3.7	63.5±3.4	64.4±3.0	0.96	0.39
Body mass index (kg/m ²)	26.7±0.9	24.8±0.9	24.0±0.8	0.85	0.43
Resting heart rate per minute	82.2±4.7	75.0±2.8†	73.7±4.1†	5.99	0.01
Systolic blood pressure (mmHg)	132.1±6.1	128.1±4.0	120.6±4.6	1.51	0.23
Diastolic blood pressure (mmHg)	82.4±3.0	80.7±2.0	80.5±2.1	0.20	0.82

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

† P<0.05 vs. sedentary control subjects.

Table 4.3 The comparison of biological data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).

	SED (n=15)			
	Baseline	After 12 weeks	t	P-value
Male/Female	5/10			
Age (y)	60.9±2.4			
Body weight (kg)	67.7±3.2	67.1±3.7	0.49	0.63
Height (cm)	152.4±4.5			
Body mass index (kg/m ²)	27.3±1.0	26.7±0.9	1.05	0.31
Resting heart rate per minute	83.2±4.9	82.2±4.7	0.89	0.39
Systolic blood pressure (mmHg)	130.5±5.4	132.1±6.1	-1.46	0.17
Diastolic blood pressure (mmHg)	83.3±2.7	82.4±3.0	0.59	0.56

Data are mean±SEM
 SED, sedentary control subjects

Table 4.4 The comparison of biological data between pre- and post-training in continuous aerobic training group (CON).

	CON (n=14)			
	Baseline	After training	t	P-value
Male/Female	5/9			
Age (y)	61.7±2.7			
Body weight (kg)	65.8±3.1	63.5±3.4*	2.28	0.40
Height (cm)	148.9±5.1			
Body mass index (kg/m ²)	26.9±0.7	24.8±0.9*	3.31	0.01
Resting heart rate per minute	80.1±3.1	75.0±2.8*	4.21	0.00
Systolic blood pressure (mmHg)	132.6±5.2	128.1±4.0	1.76	0.10
Diastolic blood pressure (mmHg)	81.2±1.5	80.7±2.0	0.69	0.50

Data are mean±SEM
 CON, continuous aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training.

Table 4.5 The comparison of biological data between pre- and post-training in interval aerobic training group (INT).

	INT (n=14)			
	Baseline	After training	t	P-value
Male/Female	5/9			
Age (y)	61.2±2.8			
Body weight (kg)	66.5±3.7	64.4±3.0*	2.40	0.32
Height (cm)	149.2±3.7			
Body mass index (kg/m ²)	26.4±1.0	24.0±0.8*	5.09	0.00
Resting heart rate per minute	79.6±3.2	73.7±4.1*	2.59	0.23
Systolic blood pressure (mmHg)	133.1±5.0	120.6±4.6*	3.88	0.00
Diastolic blood pressure (mmHg)	79.0±2.5	80.5±2.1	-1.13	0.28

Data are mean±SEM

INT, interval aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training.

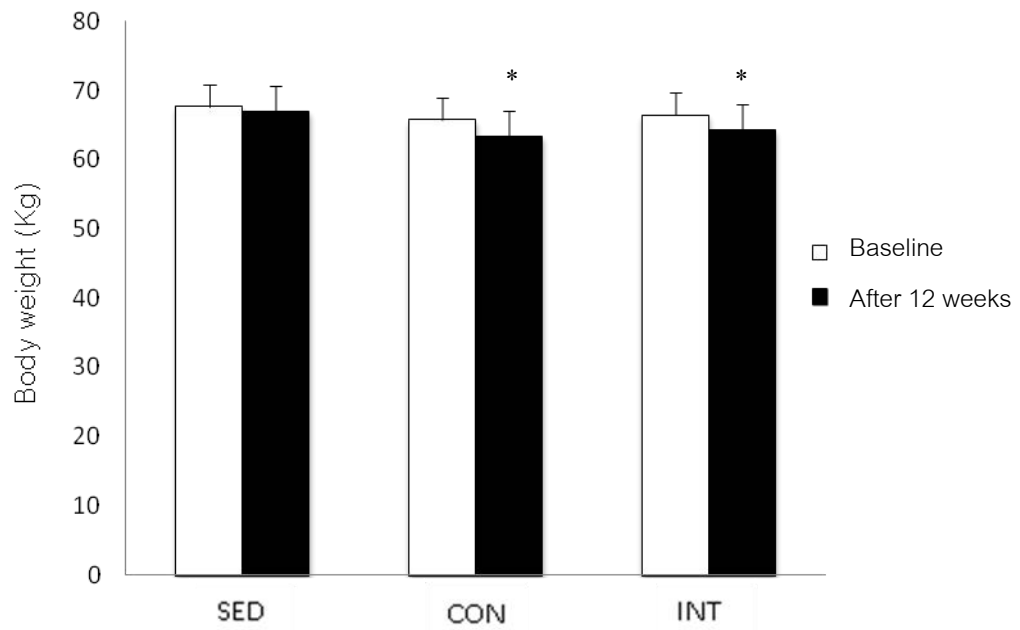
Table 4.6 The comparison of biological data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

	SED (n=15)		CON (n=14)		INT (n=14)	
	Baseline	After 12 weeks	Baseline	After training	Baseline	After training
Male/Female	5/10		5/9		5/9	
Age (y)	60.9±2.4		61.7±2.7		61.2±2.8	
Body weight (kg)	67.7±3.2	67.1±3.7	65.8±3.1	63.5±3.4*	66.5±3.7	64.4±3.0*
Height (cm)	152.4±4.5		148.9±5.1		149.2±3.7	
Body mass index (kg/m ²)	27.3±1.0	26.7±0.9	26.9±0.7	24.8±0.9*	26.4±1.0	24.0±0.8*
Resting heart rate per minute	83.2±4.9	82.2±4.7	80.1±3.1	75.0±2.8*†	79.6±3.2	73.7±4.1*†
Systolic blood pressure (mmHg)	130.5±5.4	132.1±6.1	132.6±5.2	128.1±4.0	133.1±5.0	120.6±4.6*
Diastolic blood pressure (mmHg)	83.3±2.7	82.4±3.0	81.2±1.5	80.7±2.0	79.0±2.5	80.5±2.1

Data are mean±SEM

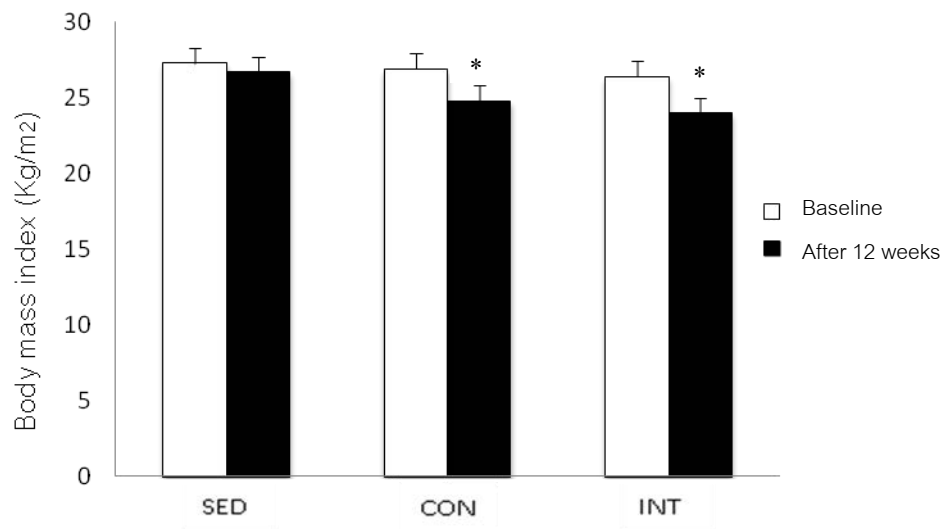
SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

* P<0.05 of baseline vs. after training; † P<0.05 vs. sedentary control subjects.



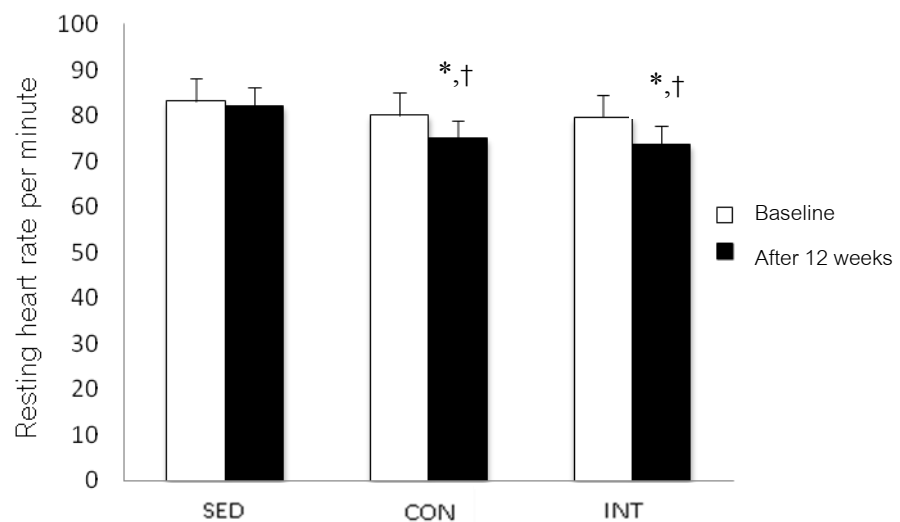
* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks.

Figure 4.1 The comparative body weight between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



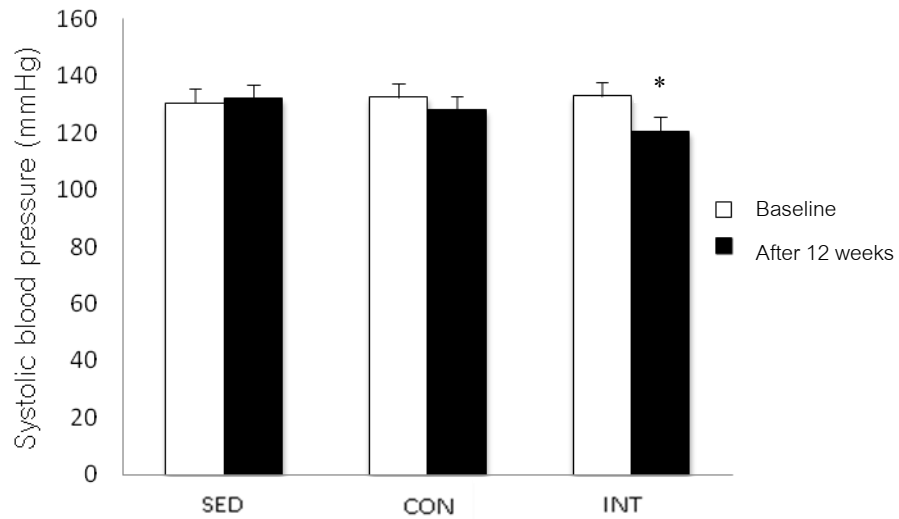
* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks

Figure 4.2 The comparative body mass index between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks; † P<0.05 vs. sedentary control subjects.

Figure 4.3 The comparative resting heart rate between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks

Figure 4.4 The comparative systolic blood pressure between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

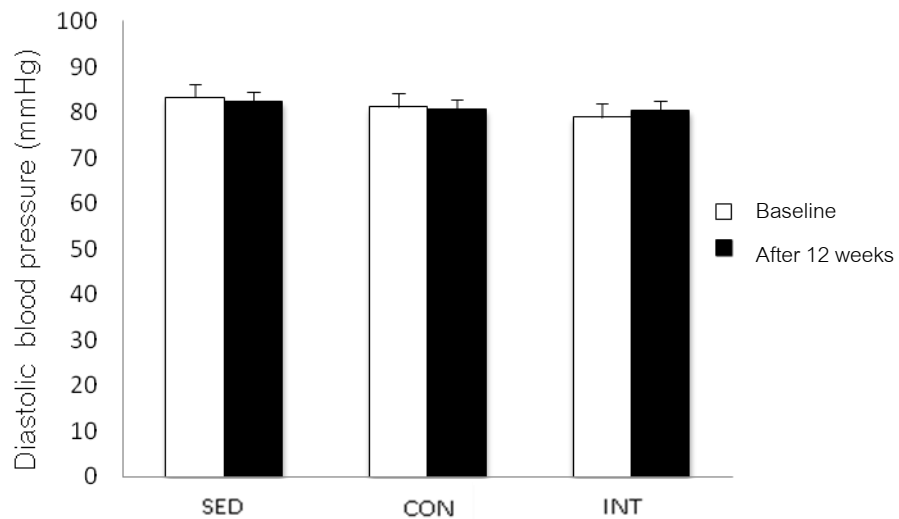


Figure 4.5 The comparative diastolic blood pressure between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Part 2 The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Table 4.7 shows the comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training in sedentary control group (SED). The SED group showed no significant difference in fat mass, body fat, muscle mass, waist-to-hip ratio, muscular strength (anterior thigh), muscular strength (posterior thigh), muscular strength (chest), muscular strength (back), body flexibility and maximal O₂ consumption between baseline and after 12 weeks.

Table 4.8 shows the comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training in continuous aerobic training (CON). The CON group had significant decreases ($P < 0.05$) in fat mass, body fat and waist-to-hip ratio and significant increase ($P < 0.05$) in muscular strength (anterior thigh) and maximal O₂ consumption as compared to baseline. However, there were no significant differences in muscular strength (posterior thigh), muscular strength (chest), muscular strength (back) and body flexibility between baseline and after training.

Table 4.9 shows the comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training in interval aerobic training (INT). The INT group had significant decreases ($P < 0.05$) in fat mass, body fat and waist-to-hip ratio and significant increase ($P < 0.05$) in muscular strength (anterior thigh), muscular strength (posterior thigh) and maximal O₂ consumption as compared to baseline. However, there were no significant differences in muscular strength (chest), muscular strength (back) and body flexibility between baseline and after training.

Table 4.10 shows the comparison of health-related physical fitness data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training. The SED, INT and CON group showed no significant differences in fat mass, body fat, muscle mass, waist-to-hip ratio, muscular strength (anterior thigh), muscular strength (posterior thigh),

muscular strength (chest), muscular strength (back), body flexibility and maximal O₂ consumption when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.11 shows the comparison of health-related physical fitness data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training. The data demonstrate that maximal O₂ consumption in INT group was significantly higher than SED and CON groups ($P < 0.05$). However, there are no significant difference in fat mass, body fat, muscle mass, waist-to-hip ratio, muscular strength (anterior thigh), muscular strength (posterior thigh), muscular strength (chest), muscular strength (back) and body flexibility when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.12 and figure 4.6 – 4.15 show the comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON). The SED group showed no significant change in all parameters. Both CON and INT groups had significant decreases ($P < 0.05$) in fat mass, body fat and waist-to-hip ratio and significant increase ($P < 0.05$) in muscular strength (anterior thigh) and maximal O₂ consumption as compared to baseline. Only INT group had significant increase ($P < 0.05$) in muscular strength (posterior thigh) as compared to baseline. At after 12 weeks, maximal O₂ consumption in INT group was significantly higher than SED and CON groups ($P < 0.05$) when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.7 The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).

	SED (n=15)			
	Baseline	After 12 weeks	T	P-value
Fat mass (kg)	23.9±1.3	24.2±1.6	-0.23	0.82
Body fat (%)	33.9±1.1	34.5±1.3	-0.80	0.44
Muscle mass (kg)	21.2±1.4	21.6±1.7	-0.67	0.52
Waist-to-hip ratio	0.97±0.01	0.98±0.01	-0.57	0.58
Muscular strength, anterior thigh (kg)	40.7±2.4	39.8±2.7	0.76	0.46
Muscular strength, posterior thigh (kg)	31.2±2.2	30.6±2.5	0.63	0.54
Muscular strength, chest (kg)	22.1±2.0	21.3±2.3	1.08	0.30
Muscular strength, back (kg)	35.7±3.2	34.9±3.1	0.75	0.47
Body flexibility (cm)	-0.1±0.9	0.0±1.1	-0.40	0.70
Maximal O ₂ consumption (ml/kg/min)	24.4±1.3	23.9±1.0	0.66	0.52

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects.

Table 4.8 The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training in continuous aerobic training (CON).

	CON (n=14)			
	Baseline	After training	T	P-value
Fat mass (kg)	23.7±1.6	22.1±1.9*	2.97	0.01
Body fat (%)	33.7±2.0	31.1±1.9*	2.69	0.02
Muscle mass (kg)	22.8±1.2	24.5±1.1*	-2.73	0.02
Waist-to-hip ratio	0.95±0.02	0.93±0.02*	2.38	0.03
Muscular strength, anterior thigh (kg)	40.8±4.4	46.9±4.2*	-2.51	0.03
Muscular strength, posterior thigh (kg)	30.7±2.0	32.2±2.5	-1.33	0.21
Muscular strength, chest (kg)	21.3±2.4	20.2±2.1	1.15	0.27
Muscular strength, back (kg)	34.5±2.1	36.0±2.4	-1.44	0.17
Body flexibility (cm)	1.0±0.6	0.6±0.9	-0.15	0.88
Maximal O ₂ consumption (ml/kg/min)	23.8±1.0	27.1±1.2*	-2.56	0.02

Data are mean±SEM

CON, continuous aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training.

Table 4.9 The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training in interval aerobic training (INT).

	INT (n=14)			
	Baseline	After training	T	P-value
Fat mass (kg)	22.8±1.0	21.5±1.6*	2.59	0.02
Body fat (%)	32.6±2.1	30.4±2.3*	2.65	0.02
Muscle mass (kg)	20.3±2.1	23.8±2.3*	-2.61	0.02
Waist-to-hip ratio	0.96±0.01	0.94±0.02*	2.47	0.03
Muscular strength, anterior thigh (kg)	38.5±4.5	45.5±4.2 *	-2.92	0.01
Muscular strength, posterior thigh (kg)	32.0±2.3	35.7±2.1*	-2.53	0.03
Muscular strength, chest (kg)	20.8±2.4	19.5±2.9	0.62	0.55
Muscular strength, back (kg)	33.1±2.4	33.8±2.6	-1.46	0.17
Body flexibility (cm)	-0.2±1.3	-0.1±0.6	-1.11	0.29
Maximal O ₂ consumption (ml/kg/min)	24.2±1.6	30.3±1.2*	-5.87	0.00

Data are mean±SEM

INT, interval aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training.

Table 4.10 The comparison of health-related physical fitness data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.

	Pre-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Fat mass (kg)	23.9±1.3	23.7±1.6	22.8±1.0	0.07	0.93
Body fat (%)	33.9±1.1	33.7±2.0	32.6±2.1	0.10	0.90
Muscle mass (kg)	21.2±1.4	22.8±1.2	20.3±2.1	2.24	0.12
Waist-to-hip ratio	0.97±0.01	0.95±0.02	0.96±0.01	1.47	0.24
Muscular strength, anterior thigh (kg)	40.7±2.4	40.8±4.4	38.5±4.5	0.91	0.91
Muscular strength, posterior thigh (kg)	31.2±2.2	30.7±2.0	32.0±2.3	0.13	0.88
Muscular strength, chest (kg)	22.1±2.0	21.3±2.4	20.8±2.4	0.64	0.53
Muscular strength, back (kg)	35.7±3.2	34.5±2.1	33.1±2.4	0.97	0.39
Body flexibility (cm)	-0.1±0.9	1.0±0.6	-0.2±1.3	1.37	0.27
Maximal O ₂ consumption (ml/kg/min)	24.4±1.3	23.8±1.0	24.2±1.6	0.12	0.89

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

Table 4.11 The comparison of health-related physical fitness data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training.

	Post-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Fat mass (kg)	24.2±1.6	22.1±1.9	21.5±1.6	2.22	0.12
Body fat (%)	34.5±1.3	31.1±1.9	30.4±2.3	2.16	0.13
Muscle mass (kg)	21.6±1.7	24.5±1.1	23.8±2.3	1.72	0.19
Waist-to-hip ratio	0.98±0.01	0.93±0.02	0.94±0.02	1.62	0.21
Muscular strength, anterior thigh (kg)	39.8±2.7	46.9±4.2	45.5±4.2	1.24	0.30
Muscular strength, posterior thigh (kg)	30.6±2.5	32.2±2.5	35.7±2.1	2.28	0.12
Muscular strength, chest (kg)	21.3±2.3	20.2±2.1	19.5±2.9	0.49	0.68
Muscular strength, back (kg)	34.9±3.1	36.0±2.4	33.8±2.6	0.77	0.47
Body flexibility (cm)	0.0±1.1	0.6±0.9	-0.1±0.6	0.02	0.98
Maximal O ₂ consumption (ml/kg/min)	23.9±1.0	27.1±1.2†	30.3±1.2†#	19.26	0.00

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

† P<0.05 vs. sedentary control subjects; # P<0.05 vs. continuous aerobic training subjects.

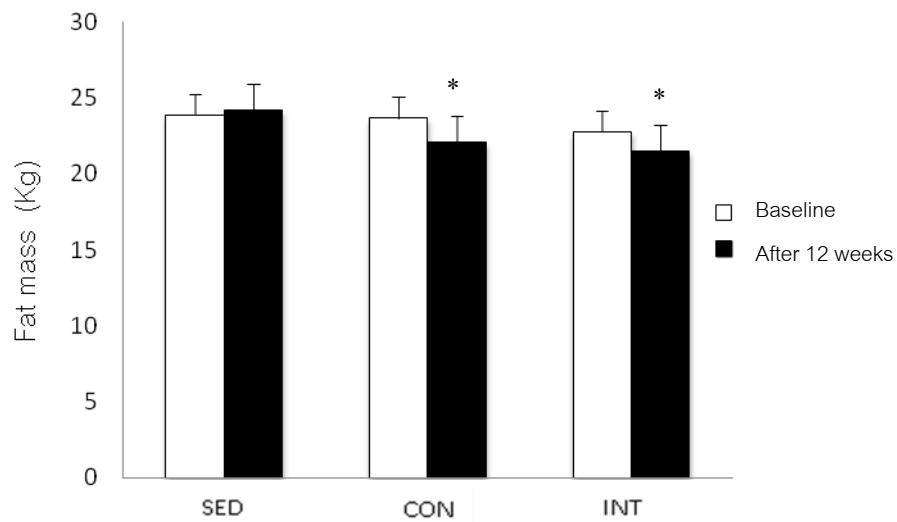
Table 4.12 The comparison of health-related physical fitness data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

	SED (n=15)		CON (n=14)		INT (n=14)	
	Baseline	After 12 weeks	Baseline	After training	Baseline	After training
Fat mass (kg)	23.9±1.3	24.2±1.6	23.7±1.6	22.1±1.9*	22.8±1.0	21.5±1.6*
Body fat (%)	33.9±1.1	34.5±1.3	33.7±2.0	31.1±1.9*	32.6±2.1	30.4±2.3*
Muscle mass (kg)	21.2±1.4	21.6±1.7	22.8±1.2	24.5±1.1*	20.3±2.1	23.8±2.3*
Waist-to-hip ratio	0.97±0.01	0.98±0.01	0.95±0.02	0.93±0.02*	0.96±0.01	0.94±0.02*
Muscular strength, anterior thigh (kg)	40.7±2.4	39.8±2.7	40.8±4.4	46.9±4.2*	38.5±4.5	45.5±4.2 *
Muscular strength, posterior thigh (kg)	31.2±2.2	30.6±2.5	30.7±2.0	32.2±2.5	32.0±2.3	35.7±2.1*
Muscular strength, chest (kg)	22.1±2.0	21.3±2.3	21.3±2.4	20.2±2.1	20.8±2.4	19.5±2.9
Muscular strength, back (kg)	35.7±3.2	34.9±3.1	34.5±2.1	36.0±2.4	33.1±2.4	33.8±2.6
Body flexibility (cm)	-0.1±0.9	0.0±1.1	1.0±0.6	0.6±0.9	-0.2±1.3	-0.1±0.6
Maximal O ₂ consumption (ml/kg/min)	24.4±1.3	23.9±1.0	23.8±1.0	27.1±1.2*†	24.2±1.6	30.3±1.2*†#

Data are mean±SEM

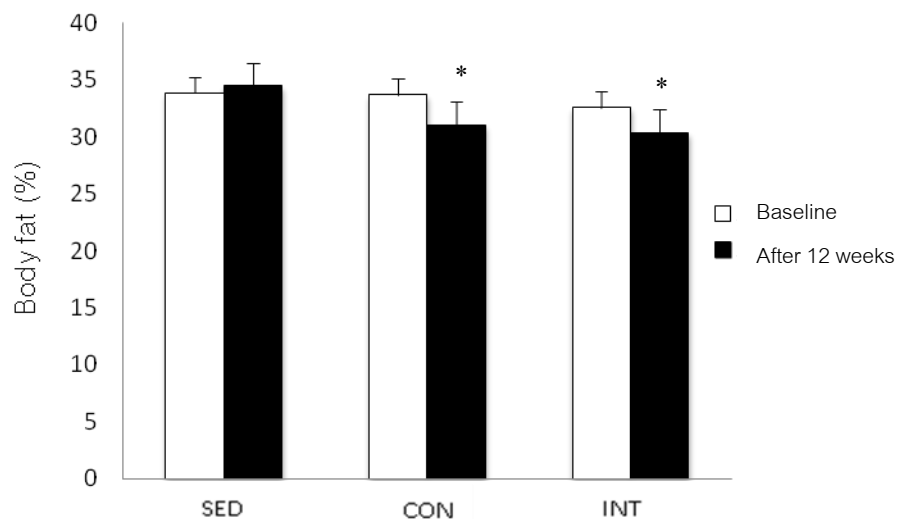
SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

* P<0.05 of baseline vs. after training; † P<0.05 vs. sedentary control subjects; # P<0.05 vs. continuous aerobic training subjects.



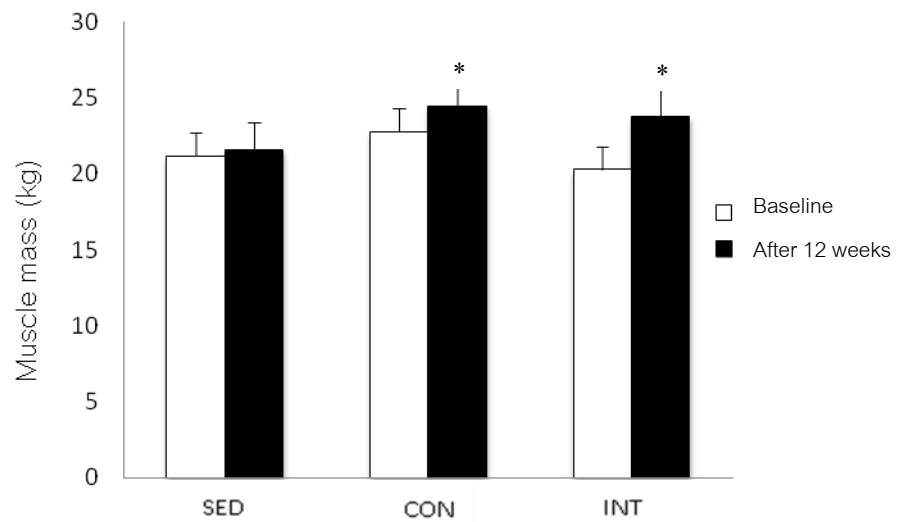
* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks

Figure 4.6 The comparative fat mass between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



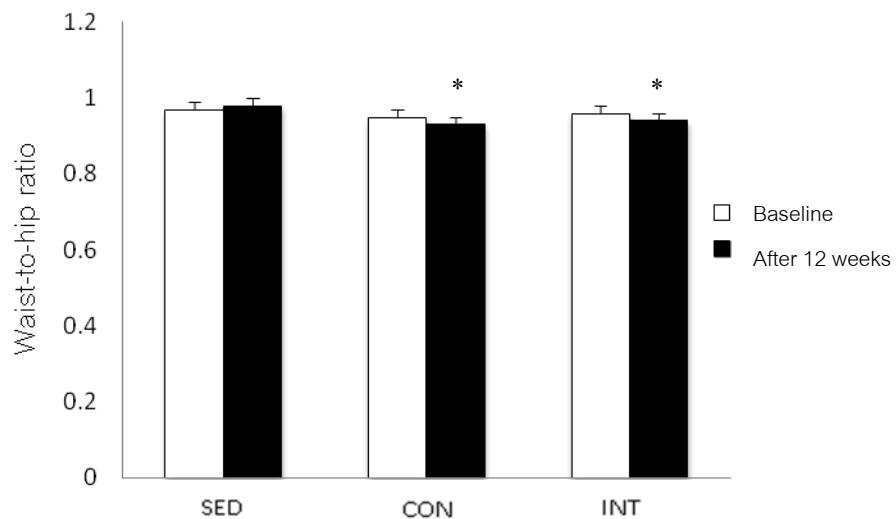
* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks

Figure 4.7 The comparative body fat between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



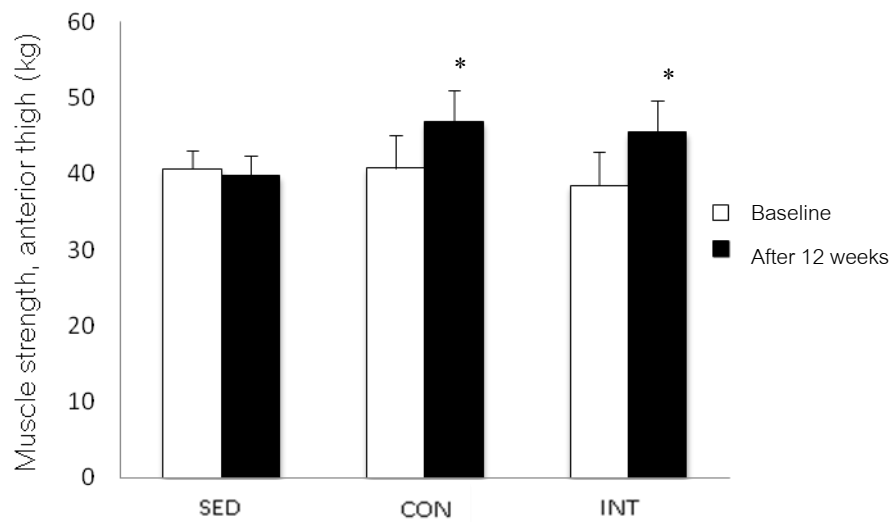
* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks

Figure 4.8 The comparative muscle mass between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



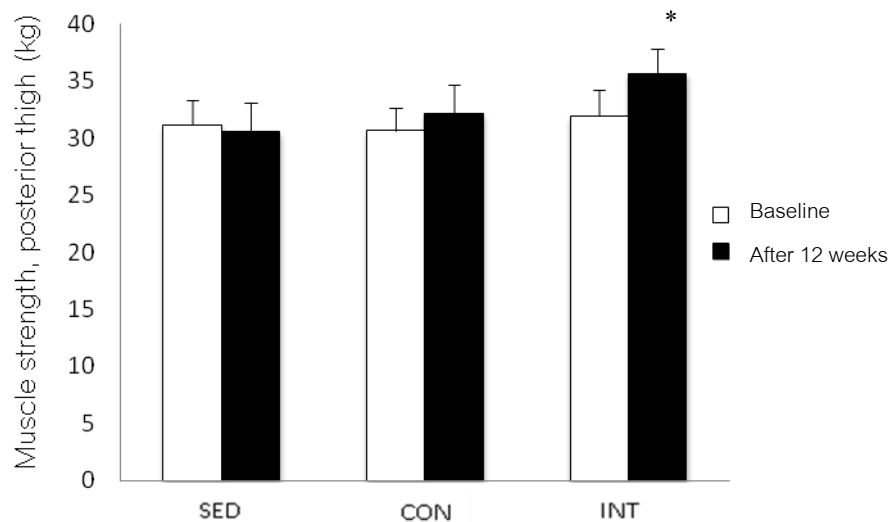
* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks

Figure 4.9 The comparative waist-to-hip ratio between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks

Figure 4.10 The comparative muscle strength, anterior thigh (kg) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks

Figure 4.11 The comparative muscle strength, posterior thigh (kg) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

group (CON).

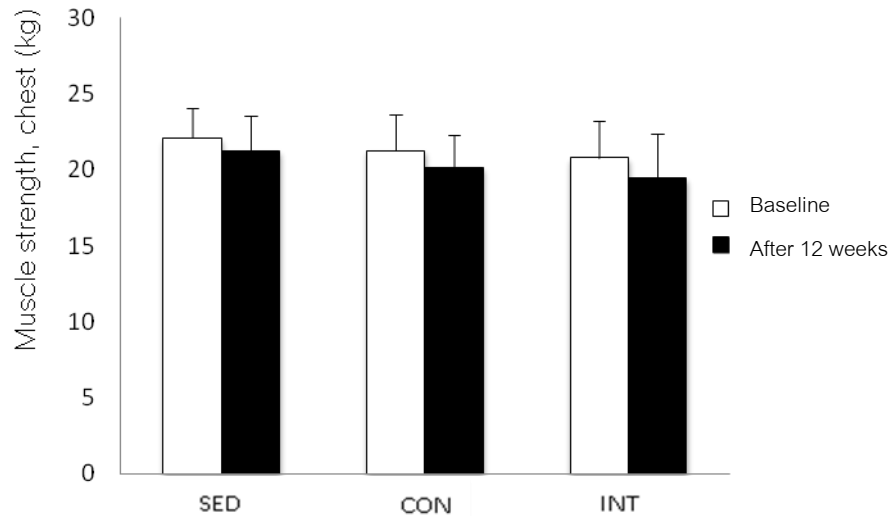


Figure 4.12 The comparative muscle strength, chest (kg) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON)

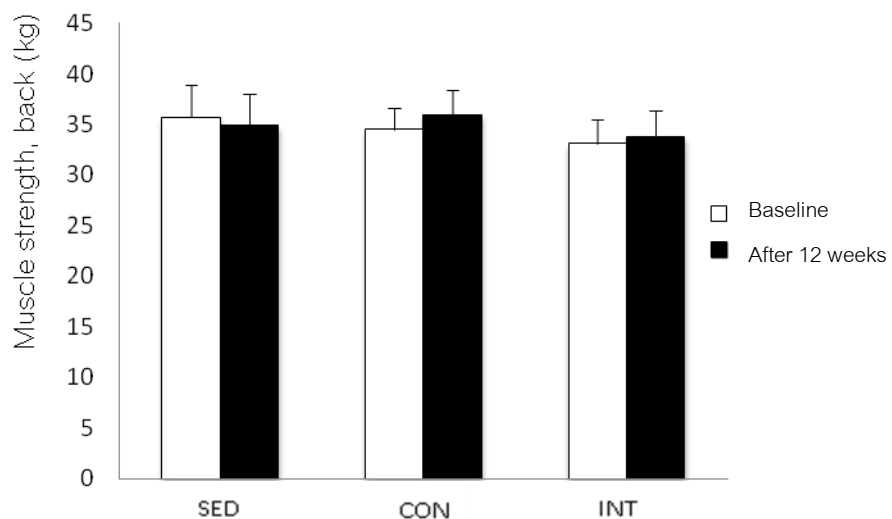


Figure 4.13 The comparative muscle strength, back (kg) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

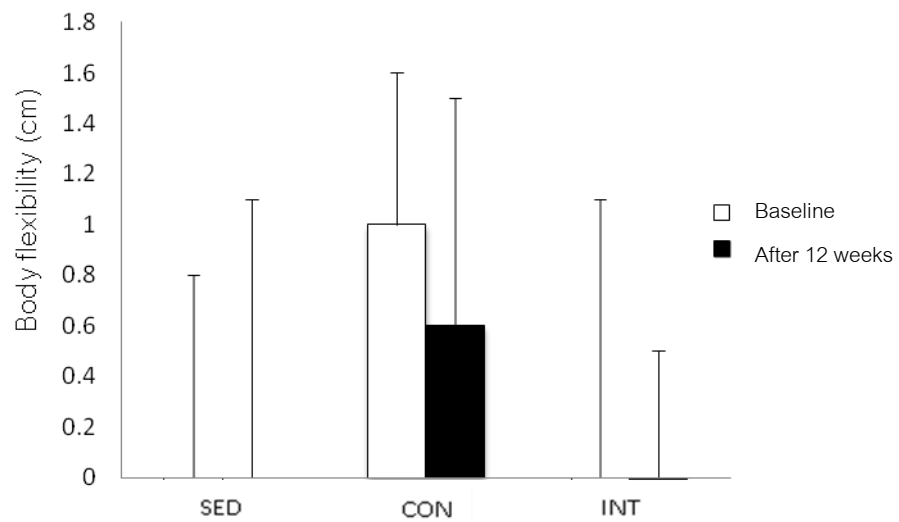
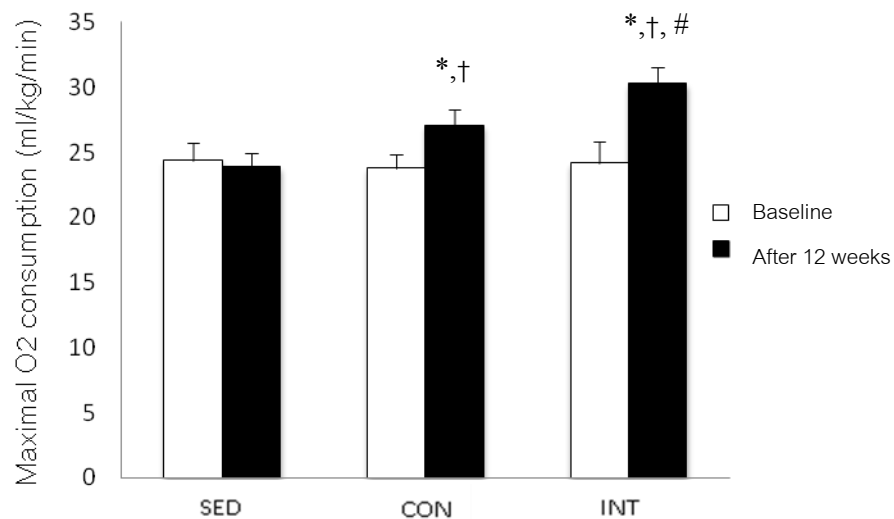


Figure 4.14 The comparative body flexibility between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks; † $P < 0.05$ vs. sedentary control subjects; # $P < 0.05$ vs. interval aerobic training subjects

Figure 4.15 The comparative maximal O_2 consumption between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Part 3 The comparison of biochemistry data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Table 4.13 shows the comparison of biochemistry data between pre- and post-training in sedentary control group (SED). The SED group showed no significant difference in fasting blood glucose, HbA1c, insulin resistance (HOMA), total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglyceride, malondialdehyde, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, nitric oxide and von Willebrand factor between baseline and after 12 weeks.

Table 4.14 shows the comparison of biochemistry data between pre- and post-training in continuous aerobic training (CON). The CON group had significant decreases ($P < 0.05$) in fasting blood glucose, insulin resistance (HOMA), HDL cholesterol and LDL cholesterol and significant increase ($P < 0.05$) in HDL cholesterol as compared to baseline. However, there are no significant difference in HbA1c, total cholesterol, triglyceride, malondialdehyde, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, nitric oxide and von Willebrand factor between baseline and after training.

Table 4.15 shows the comparison of biochemistry data between pre- and post-training in interval aerobic training (INT). The INT group had significant decreases ($P < 0.05$) in fasting blood glucose, HbA1c, insulin resistance (HOMA), total cholesterol, LDL cholesterol, malondialdehyde, superoxide dismutase and von Willebrand factor and significant increase ($P < 0.05$) in HDL cholesterol, glutathione peroxidase and nitric oxide as compared to baseline. However, there are no significant difference in triglyceride and superoxide dismutase between baseline and after training.

Table 4.16 shows the comparison of biochemistry data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training. The SED, INT and CON group showed no significant difference in fasting blood glucose, HbA1c, insulin resistance (HOMA), total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglyceride,

malondialdehyde, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, nitric oxide and von Willebrand factor when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.17 shows the comparison of biochemistry data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training. The data demonstrate that glutathione peroxidase in INT group was significantly higher than SED group ($P<0.05$). von Willebrand factor in INT group was significantly lower than SED group ($P<0.05$). Nitric oxide in INT group was significantly higher than CON group ($P<0.05$). However, there are no significant difference in fasting blood glucose, HbA1c, insulin resistance (HOMA), total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglyceride, malondialdehyde and superoxide dismutase when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.18 and figure 4.16 – 4.27 show the comparison of biochemistry data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON). The SED group showed no significant change in all parameters. Both CON and INT groups had significant decreases ($P<0.05$) in fasting blood glucose, insulin resistance (HOMA), HDL cholesterol and LDL cholesterol and significant increase ($P<0.05$) in HDL cholesterol as compared to baseline. Only INT group had significant decrease ($P<0.05$) in HbA1c, total cholesterol, malondialdehyde and von Willebrand factor and significant increase ($P<0.05$) in glutathione peroxidase and nitric oxide as compared to baseline. At after 12 weeks, glutathione peroxidase in INT group was significantly higher than SED group ($P<0.05$). von Willebrand factor in INT group was significantly lower than SED group ($P<0.05$). Nitric oxide in INT group was significantly higher than CON group ($P<0.05$).

Table 4.13 The comparison of biochemistry data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).

	SED (n=15)			
	Baseline	After 12 weeks	t	P-value
Fasting blood glucose (mg/dl)	132.8±21.8	130.8±20.4	0.06	0.95
HbA _{1c} (%)	7.8±0.7	8.1±0.4	-1.45	0.17
Insulin resistance (HOMA)	3.9±1.2	4.2±1.4	-0.92	0.52
Total cholesterol (mg/dl)	198.1±15.0	208.1±14.2	-1.55	0.21
HDL cholesterol (mg/dl)	43.1±5.0	44.7±4.1	-1.41	0.18
LDL cholesterol (mg/dl)	134.7±15.1	129.4±14.3	1.37	0.19
Triglyceride (mg/dl)	160.0±21.1	155.1±19.8	0.64	0.54
Malondialdehyde (µmol/L)	1.34±0.06	1.33±0.1	0.18	0.95
Glutathione peroxidase (U/g Hb)	85.8±4.0	81.3±5.8	0.60	0.56
Superoxide dismutase (U/g Hb)	2882.6±81.5	2617.4±70.3	1.89	0.12
Nitric oxide (nmoles)	0.73±0.23	1.16±0.2	-1.73	0.09
von Willebrand factor (%)	121.5±14.4	131.3±16.7	-1.65	0.10

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects.

Table 4.14 The comparison of biochemistry data between pre- and post-training in continuous aerobic training (CON).

	CON (n=14)			
	Baseline	After 12 weeks	t	P-value
Fasting blood glucose (mg/dl)	138.2±28.3	120.0±19.7*	2.43	0.04
HbA _{1c} (%)	7.7±0.8	7.5±0.7	2.14	0.08
Insulin resistance (HOMA)	2.8±1.3	2.3±1.5*	4.64	0.02
Total cholesterol (mg/dl)	182.4±15.4	178.4±15.2	0.88	0.76
HDL cholesterol (mg/dl)	53.1±4.4	56.1±4.9*	-2.54	0.04
LDL cholesterol (mg/dl)	131.5±14.5	109.9±13.8*	2.57	0.04
Triglyceride (mg/dl)	145.3±18.8	139.1±20.1	0.35	0.91
Malondialdehyde (µmol/L)	1.36±0.07	1.21±0.14	1.61	0.15
Glutathione peroxidase (U/g Hb)	96.6±5.3	99.4.2±3.6	-0.49	0.63
Superoxide dismutase (U/g Hb)	2815.0±64.5	2724.6±76.0	0.22	0.86
Nitric oxide (nmoles)	0.92±0.20	0.82±0.15	-0.45	0.71
von Willebrand factor (%)	125.7±18.9	117.0±12.5	0.97	0.35

Data are mean±SEM

CON, continuous aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training;

Table 4.15 The comparison of biochemistry data between pre- and post-training in interval aerobic training (INT).

	INT (n=14)			
	Baseline	After 12 weeks	t	P-value
Fasting blood glucose (mg/dl)	138.2±21.9	119.4±22.5*	3.12	0.00
HbA _{1c} (%)	7.6±0.7	7.1±0.5*	2.67	0.03
Insulin resistance (HOMA)	3.1±1.4	2.5±1.1*	5.73	0.00
Total cholesterol (mg/dl)	189.1±17.8	170.4±18.4*	1.24	0.69
HDL cholesterol (mg/dl)	41.4±3.9	52.7±5.1*	-5.19	0.00
LDL cholesterol (mg/dl)	129.3±14.7	101.3±13.6*	4.36	0.00
Triglyceride (mg/dl)	147.1±20.0	130.1±18.7	1.45	0.17
Malondialdehyde (µmol/L)	1.56±0.07	1.03±0.07*	4.78	0.00
Glutathione peroxidase (U/g Hb)	89.9±5.0	112.2±7.3*	-4.92	0.00
Superoxide dismutase (U/g Hb)	2812.6±88.3	2761.6±76.9	0.20	0.88
Nitric oxide (nmoles)	0.71±0.20	1.47±0.18*	-3.03	0.01
von Willebrand factor (%)	129.6±20.1	83.0±16.9*	3.87	0.00

Data are mean±SEM

INT, interval aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training;

Table 4.16 The comparison of biochemistry data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.

	Pre-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Fasting blood glucose (mg/dl)	132.8±21.8	138.2±28.3	138.2±21.9	0.23	0.79
HbA _{1c} (%)	7.8±0.7	7.7±0.8	7.6±0.7	0.50	0.61
Insulin resistance (HOMA)	3.9±1.2	2.8±1.3	3.1±1.4	2.18	0.13
Total cholesterol (mg/dl)	198.1±15.0	182.4±15.4	189.1±17.8	1.13	0.33
HDL cholesterol (mg/dl)	43.1±5.0	53.1±4.4	41.4±3.9	0.91	0.41
LDL cholesterol (mg/dl)	134.7±15.1	131.5±14.5	129.3±14.7	2.10	0.18
Triglyceride (mg/dl)	160.0±21.1	145.3±18.8	147.1±20.0	2.50	0.11
Malondialdehyde (µmol/L)	1.34±0.06	1.36±0.07	1.56±0.07	2.62	0.10
Glutathione peroxidase (U/g Hb)	85.8±4.0	96.6±5.3	89.9±5.0	1.31	0.28
Superoxide dismutase (U/g Hb)	2882.6±81.5	2815.0±64.5	2812.6±88.3	0.43	0.87
Nitric oxide (nmoles)	0.73±0.23	0.92±0.20	0.71±0.20	1.26	0.29
von Willebrand factor (%)	121.5±14.4	125.7±18.9	129.6±20.1	2.13	0.15

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

Table 4.17 The comparison of biochemistry data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training.

	Pre-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Fasting blood glucose (mg/dl)	130.8±20.4	120.0±19.7	119.4±22.5	0.96	0.39
HbA _{1c} (%)	8.1±0.4	7.5±0.7	7.1±0.5	1.45	0.24
Insulin resistance (HOMA)	4.2±1.4	2.3±1.5	2.5±1.1	2.1	0.14
Total cholesterol (mg/dl)	208.1±14.2	178.4±15.2	170.4±18.4	1.82	0.18
HDL cholesterol (mg/dl)	44.7±4.1	56.1±4.9	52.7±5.1	2.06	0.14
LDL cholesterol (mg/dl)	129.4±14.3	109.9±13.8	101.3±13.6	2.02	0.15
Triglyceride (mg/dl)	155.1±19.8	139.1±20.1	130.1±18.7	3.09	0.06
Malondialdehyde (µmol/L)	1.33±0.1	1.21±0.14	1.03±0.07	1.87	0.16
Glutathione peroxidase (U/g Hb)	81.3±5.8	99.4.2±3.6	112.2±7.3†	3.60	0.04
Superoxide dismutase (U/g Hb)	2617.4±70.3	2724.6±76.0	2761.6±76.9	0.57	0.57
Nitric oxide (nmoles)	1.16±0.2	0.82±0.15	1.47±0.18#	3.41	0.04
von Willebrand factor (%)	131.3±16.7	117.0±12.5	83.0±16.9†	4.08	0.02

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

† P<0.05 vs. sedentary control subjects; # P<0.05 vs. continuous aerobic training subjects.

Table 4.18 The comparison of biochemistry data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

	SED (n=15)		CON (n=14)		INT (n=14)	
	Baseline	After 12 weeks	Baseline	After training	Baseline	After training
Fasting blood glucose (mg/dl)	132.8±21.8	130.8±20.4	138.2±28.3	120.0±19.7*	138.2±21.9	119.4±22.5*
HbA _{1c} (%)	7.8±0.7	8.1±0.4	7.7±0.8	7.5±0.7	7.6±0.7	7.1±0.5*
Insulin resistance (HOMA)	3.9±1.2	4.2±1.4	2.8±1.3	2.3±1.5*	3.1±1.4	2.5±1.1*
Total cholesterol (mg/dl)	198.1±15.0	208.1±14.2	182.4±15.4	178.4±15.2	189.1±17.8	170.4±18.4*
HDL cholesterol (mg/dl)	43.1±5.0	44.7±4.1	53.1±4.4	56.1±4.9*	41.4±3.9	52.7±5.1*
LDL cholesterol (mg/dl)	134.7±15.1	129.4±14.3	131.5±14.5	109.9±13.8*	129.3±14.7	101.3±13.6*

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

* P<0.05 of baseline vs. after training; † P<0.05 vs. sedentary control subjects; # P<0.05 vs. continuous aerobic training subjects.

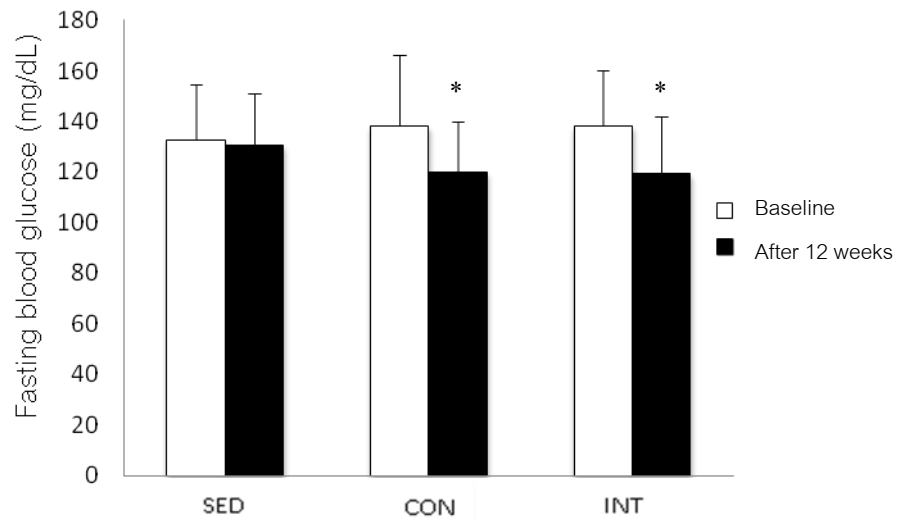
Table 4.18 (Continued) The comparison of biochemistry data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

	SED (n=15)		CON (n=14)		INT (n=14)	
	Baseline	After 12 weeks	Baseline	After training	Baseline	After training
Triglyceride (mg/dl)	160.0±21.1	155.1±19.8	145.3±18.8	139.1±20.1	147.1±20.0	130.1±18.7
Malondialdehyde (µmol/L)	1.34±0.06	1.33±0.1	1.36±0.07	1.21±0.14	1.56±0.07	1.03±0.07*
Glutathione peroxidase (U/g Hb)	85.8±4.0	81.3±5.8	96.6±5.3	99.4.2±3.6	89.9±5.0	112.2±7.3*†
Superoxide dismutase (U/g Hb)	2882.6±81.5	2617.4±70.3	2815.0±64.5	2724.6±76.0	2812.6±88.3	2761.6±76.9
Nitric oxide (nmoles)	0.73±0.23	1.16±0.2	0.92±0.20	0.82±0.15	0.71±0.20	1.47±0.18*#
von Willebrand factor (%)	121.5±14.4	131.3±16.7	125.7±18.9	117.0±12.5	129.6±20.1	83.0±16.9*†

Data are mean±SEM

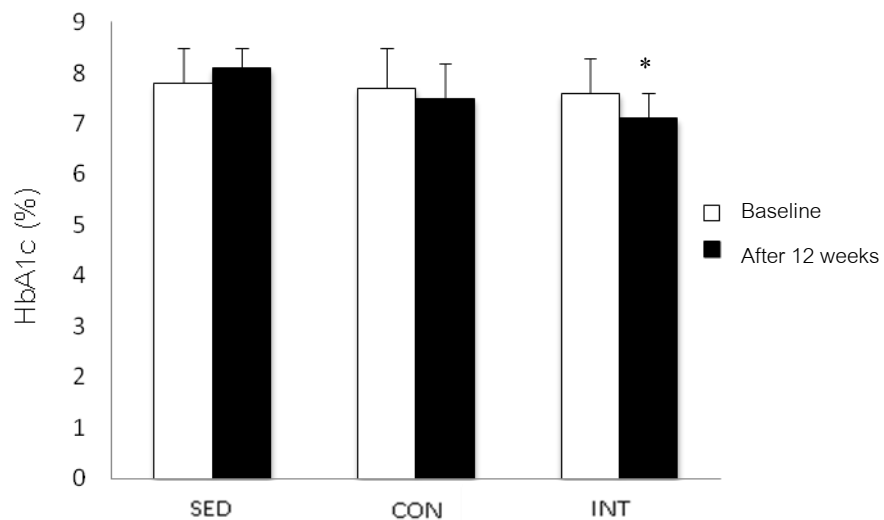
SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

* P<0.05 of baseline vs. after training; † P<0.05 vs. sedentary control subjects; # P<0.05 vs. continuous aerobic training subjects.



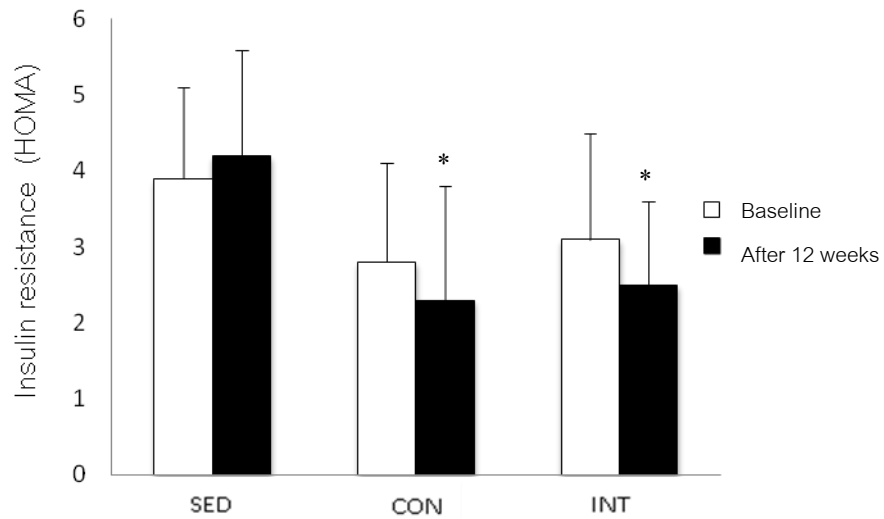
* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks.

Figure 4.16 The comparative fasting blood glucose between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



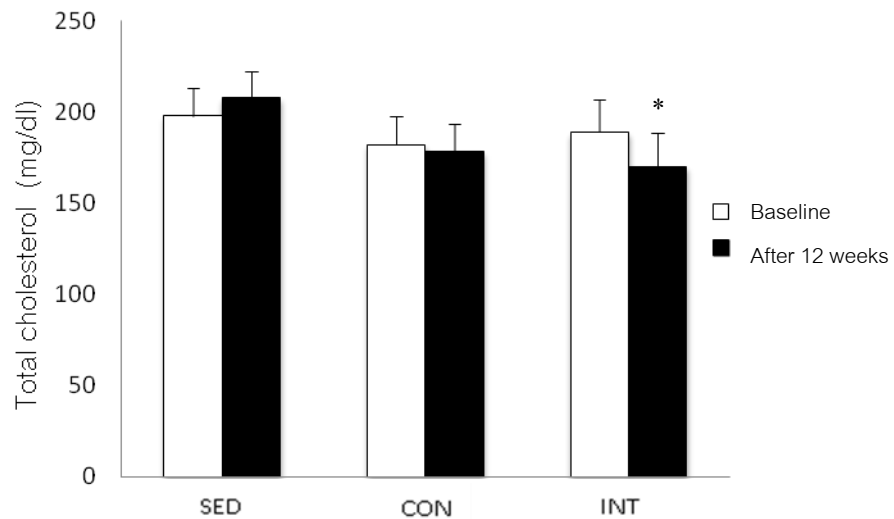
* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks.

Figure 4.17 The comparative HbA1c between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



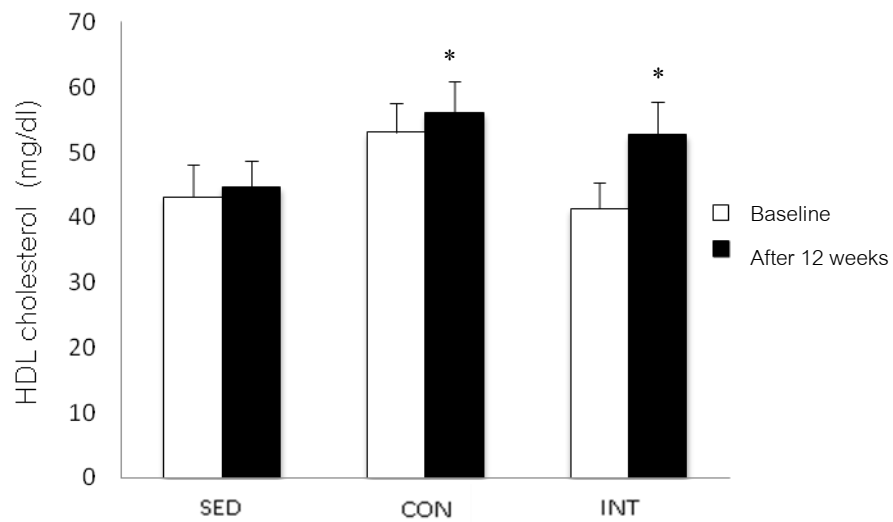
* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks.

Figure 4.18 The comparative insulin resistance (HOMA) between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



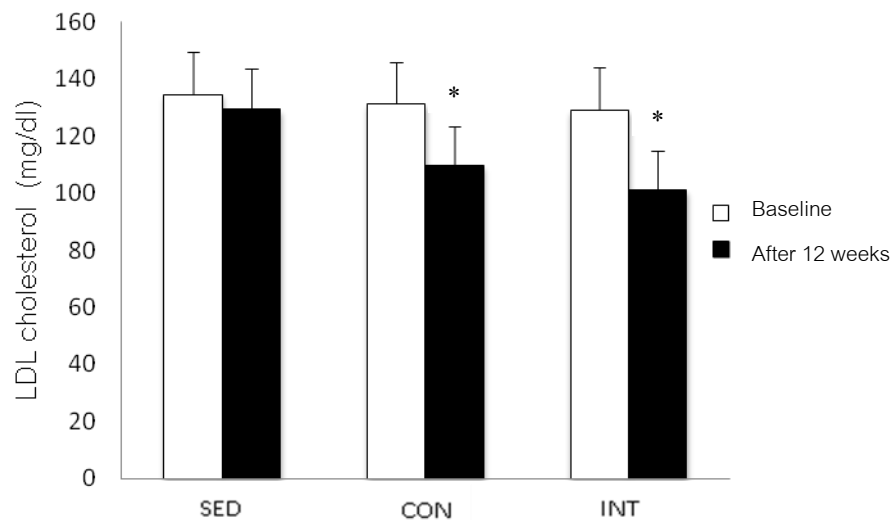
* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks.

Figure 4.19 The comparative total cholesterol between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks.

Figure 4.20 The comparative HDL cholesterol between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks.

Figure 4.21 The comparative LDL cholesterol between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

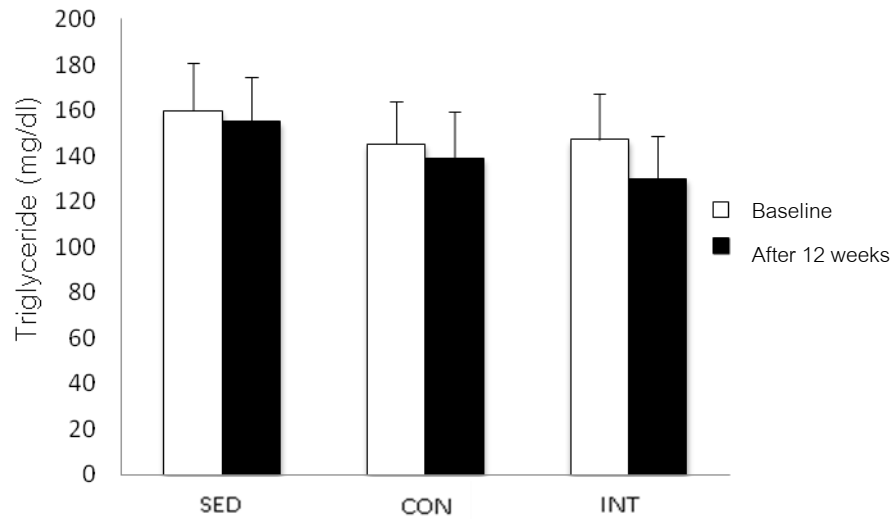
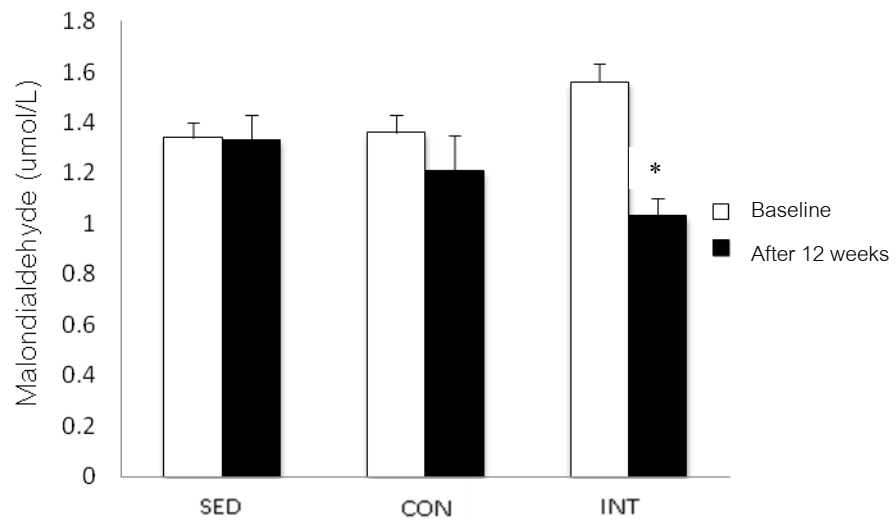
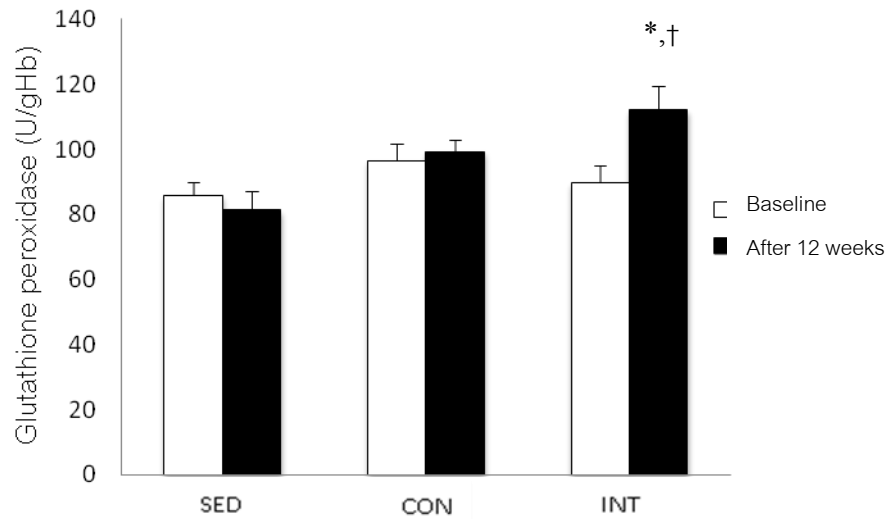


Figure 4.22 The comparative triglyceride between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks.

Figure 4.23 The comparative malondialdehyde between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks; † $P < 0.05$ vs. sedentary control subjects.

Figure 4.24 The comparative glutathione peroxidase between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

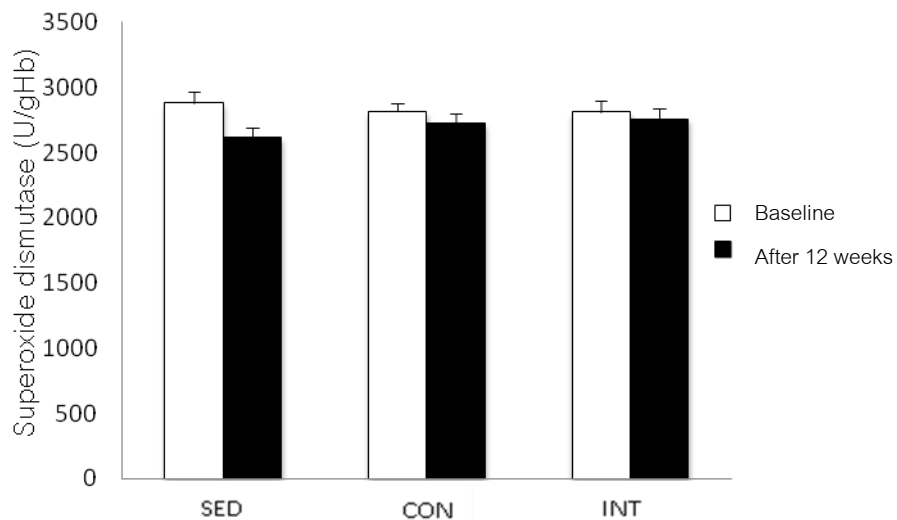
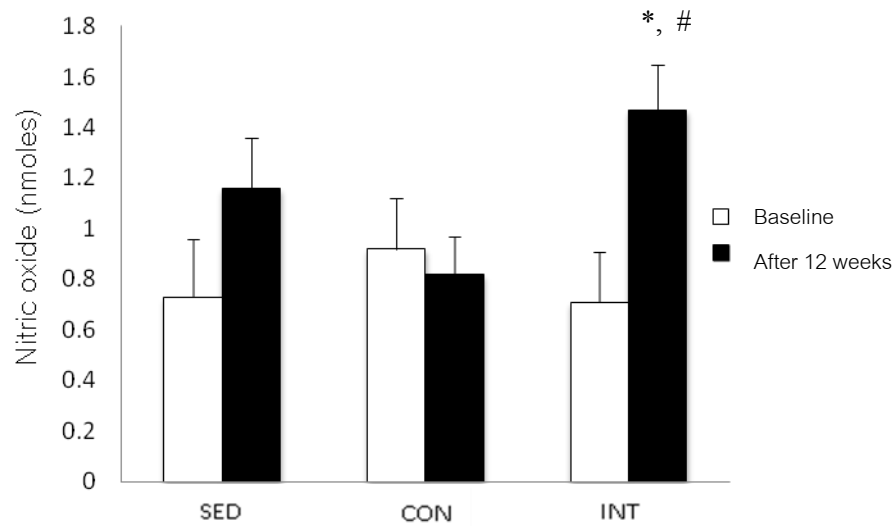
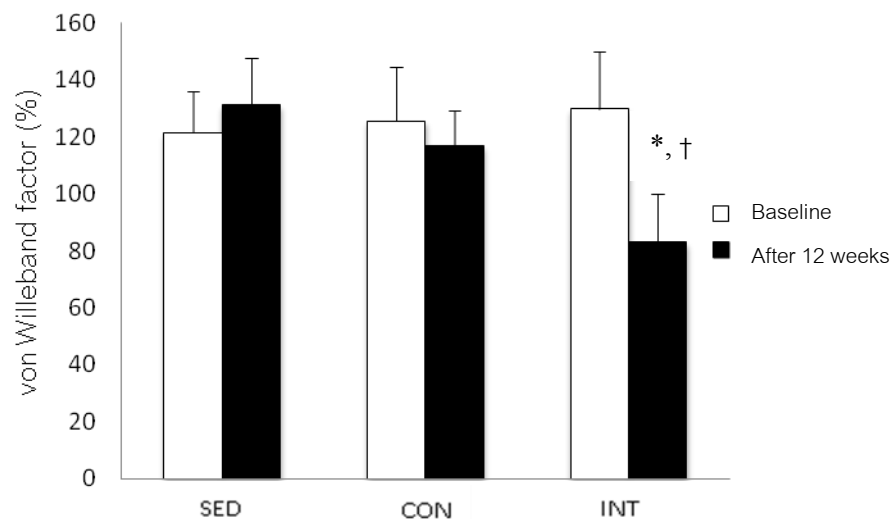


Figure 4.25 The comparative superoxide dismutase between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks; # P<0.05 vs. interval aerobic training subjects.

Figure 4.26 The comparative nitric oxide between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks; † P<0.05 vs. sedentary control subjects.

Figure 4.27 The comparative von Willebrand factor between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Part 4 The comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Table 4.19 shows the comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training in sedentary control group (SED). The SED group showed no significant difference in resting cutaneous blood flow, maximum cutaneous blood flow and ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow between baseline and after 12 weeks.

Table 4.20 shows the comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training in continuous aerobic training group (CON). The CON group had significant increase ($P < 0.05$) in ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow as compared to baseline. However, there are no significant difference in resting cutaneous blood flow and maximum cutaneous blood flow between baseline and after training.

Table 4.21 shows the comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training in interval aerobic training group (INT). The INT group had significant increase ($P < 0.05$) in ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow as compared to baseline. However, there are no significant difference in resting cutaneous blood flow and maximum cutaneous blood flow between baseline and after training.

Table 4.22 shows the comparison of cutaneous blood flow data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training. The SED, INT and CON group showed no significant difference in resting cutaneous blood flow, maximum cutaneous blood flow and ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.23 shows the comparison of cutaneous blood flow data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training. The data demonstrate

that ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow in INT group was significantly higher than SED and CON groups ($P<0.05$) when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.24 and figure 4.28 – 4.30 show the comparison of cutaneous blood flow data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON). The SED group showed no significant change in all parameters. At after 12 weeks, ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow in INT group was significantly higher than SED and CON groups ($P<0.05$).

Table 4.19 The comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).

	SED (n=15)			
	Baseline	After 12 weeks	t	P-value
Resting cutaneous blood flow (AU)	18.8±2.8	20.1±2.4	-1.29	0.22
Maximal cutaneous blood flow (AU)	87.8±14.7	89.6±16.4	-0.33	0.75
Ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow	4.4±0.06	4.6±0.05	-1.90	0.80

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects.

Table 4.20 The comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training in continuous aerobic training group (CON).

	CON (n=14)			
	Baseline	After 12 weeks	T	P-value
Resting cutaneous blood flow (AU)	19.2±2.3	18.1±1.7	1.56	0.14
Maximal cutaneous blood flow (AU)	85.1±12.8	91.5±17.4	-0.48	0.64
Ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow	4.2±0.04	4.7±0.05*	-3.18	0.00

Data are mean±SEM

CON, continuous aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training.

Table 4.21 The comparison of cutaneous blood flow data between pre- and post-training in interval aerobic training group (INT).

	INT (n=14)			
	Baseline	After 12 weeks	t	P-value
Resting cutaneous blood flow (AU)	19.7±1.9	18.4±2.5	1.98	0.07
Maximal cutaneous blood flow (AU)	86.1±18.8	93.9±19.5	-1.59	0.14
Ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow	4.5±0.05	5.1±0.05*	-4.08	0.00

Data are mean±SEM

INT, interval aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training.

Table 4.22 The comparison of cutaneous blood flow data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.

	Pre-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Resting cutaneous blood flow (AU)	18.8±2.8	19.2±2.3	19.7±1.9	1.11	0.34
Maximal cutaneous blood flow (AU)	87.8±14.7	85.1±12.8	86.1±18.8	0.17	0.85
Ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow	4.4±0.06	4.2±0.04	4.5±0.05	1.50	0.24

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

Table 4.23 The comparison of cutaneous blood flow data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training.

	Post-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Resting cutaneous blood flow (AU)	20.1±2.4	18.1±1.7	18.4±2.5	1.19	0.31
Maximal cutaneous blood flow (AU)	89.6±16.4	91.5±17.4	93.9±19.5	0.61	0.55
Ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow	4.6±0.05	4.7±0.05	5.1±0.05†#	4.84	0.01

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

† P<0.05 vs. sedentary control subjects; # P<0.05 vs. continuous aerobic training subjects

Table 4.24 The comparison of cutaneous blood flow data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

	SED		CON		INT	
	Baseline	After 12 weeks	Baseline	After training	Baseline	After training
Resting cutaneous blood flow (AU)	18.8±2.8	20.1±2.4	19.2±2.3	18.1±1.7	19.7±1.9	18.4±2.5
Maximal cutaneous blood flow (AU)	87.8±14.7	89.6±16.4	85.1±12.8	91.5±17.4	86.1±18.8	93.9±19.5
Ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow	4.4±0.06	4.6±0.05	4.2±0.04	4.7±0.05*	4.5±0.05	5.1±0.05*†#

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

* P<0.05 of baseline vs. after training; † P<0.05 vs. sedentary control subjects; # P<0.05 vs. continuous aerobic training subjects

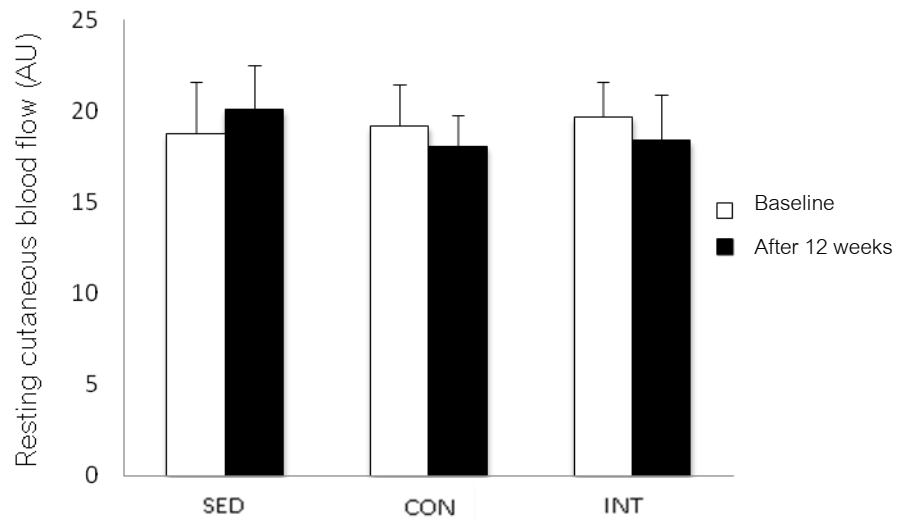


Figure 4.28 The comparative resting cutaneous blood flow between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

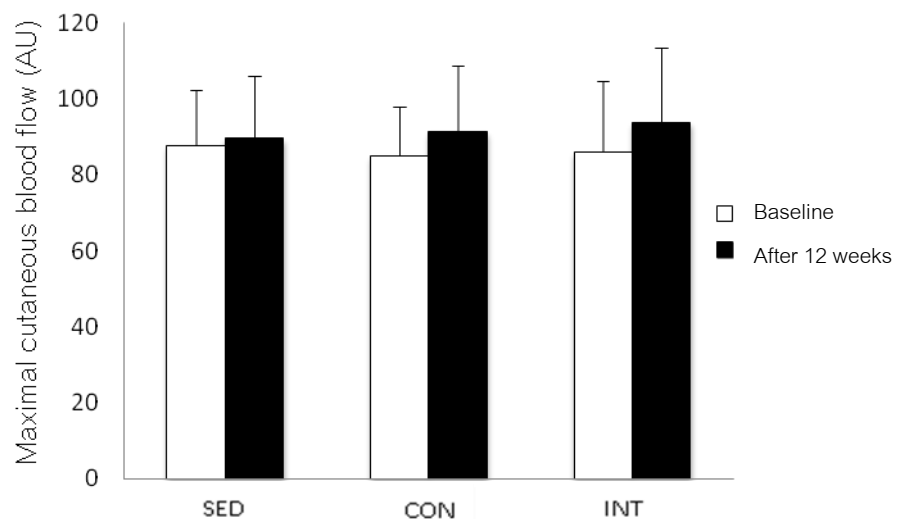
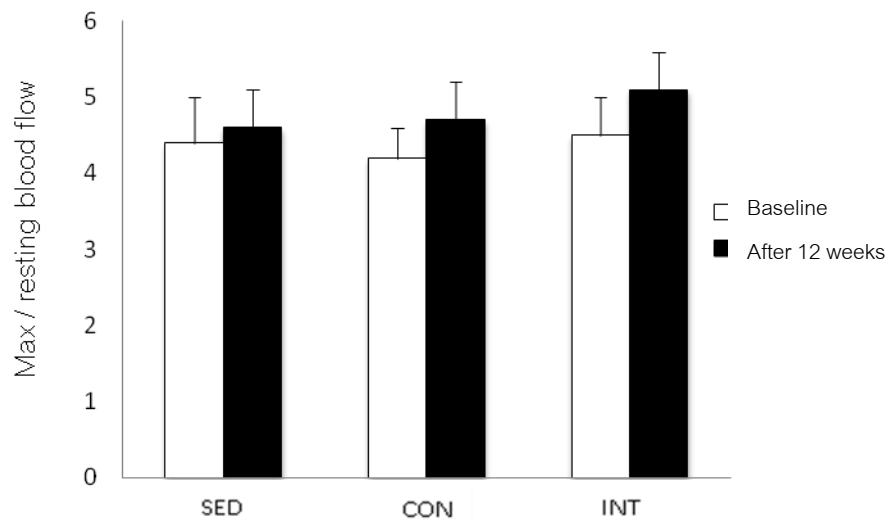


Figure 4.29 The comparative maximal cutaneous blood flow between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

*,†,#



* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks; † $P < 0.05$ vs. sedentary control subjects; # $P < 0.05$ vs. interval aerobic training subjects

Figure 4.30 The comparative ratio of maximal cutaneous blood flow to resting cutaneous blood flow between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Part 5 The comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

Table 4.25 shows the comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training in sedentary control group (SED). The SED group showed no significant difference in resting diameter, peak diameter, flow-mediated dilatation, time to peak diameter, shear rate at resting diameter and peak shear rate between baseline and after 12 weeks.

Table 4.26 shows the comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training in continuous aerobic group (CON). The CON group had significant increase ($P < 0.05$) in flow-mediated dilatation as compared to baseline. However, there are no significant difference in resting resting diameter, peak diameter, time to peak diameter, shear rate at resting diameter and peak shear rate between baseline and after training.

Table 4.27 shows the comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training in interval aerobic group (INT). The INT group had significant increase ($P < 0.05$) in flow-mediated dilatation and peak shear rate as compared to baseline. However, there are no significant difference in resting resting diameter, peak diameter, time to peak diameter and shear rate at resting diameter between baseline and after training.

Table 4.28 shows the comparison of brachial artery characteristics data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training. The SED, INT and CON group showed no significant difference in resting diameter, peak diameter, flow-mediated dilatation, time to peak diameter, shear rate at resting diameter and peak shear rate when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.29 shows the comparison of brachial artery characteristics data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training. The data

demonstrate that flow-mediate dilatation in INT group was significantly higher than SED and CON groups ($P<0.05$) and peak shear rate in INT group was significantly higher than SED ($P<0.05$) when compared among in SED group, CON group and INT group.

Table 4.30 and figure 4.31 – 4.36 show the comparison of brachial artery characteristics data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON). The SED group showed no significant change in all parameters. Both CON and INT groups had significant increase ($P<0.05$) in flow-mediate dilatation as compared to baseline. Only INT group had significant increase ($P<0.05$) in peak shear rate as compared to baseline. At after 12 weeks, flow-mediate dilatation in INT group was significantly higher than SED and CON groups ($P<0.05$) and peak shear rate in INT group was significantly higher than SED ($P<0.05$).

Table 4.25 The comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training in sedentary control group (SED).

	SED (n=15)			
	Baseline	After 12 weeks	T	P-value
Resting diameter (mm)	4.41±0.61	4.47±0.67	-0.47	0.65
Peak diameter (mm)	4.64±0.43	4.69±0.24	-0.51	0.62
Flow-mediate dilatation (%)	5.1±1.3	5.6±1.8	-0.70	0.49
Time to peak diameter (s)	59±8	61±14	-1.25	0.23
Shear rate at resting diameter (s^{-1})	36.2±3.2	37.7±3.0	-1.21	0.25
Peak shear rate (s^{-1})	38.2±5.5	42.1±4.3	-1.60	0.13

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects.

Table 4.26 The comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training in continuous aerobic group (CON).

	CON (n=14)			
	Baseline	After 12 weeks	T	P-value
Resting diameter (mm)	4.38±0.71	4.41±0.73	-0.35	0.74
Peak diameter (mm)	4.58±0.36	4.73±0.21	-1.29	0.22
Flow-mediate dilatation (%)	4.8±1.6	6.1±1.8*	-2.68	0.02
Time to peak diameter (s)	64±15	61±12	0.11	0.92
Shear rate at resting diameter (s ⁻¹)	34.8±3.4	34.1±2.8	1.25	0.23
Peak shear rate (s ⁻¹)	42.5±4.7	43.9±3.9	-0.53	0.61

Data are mean±SEM

CON, continuous aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training.

Table 4.27 The comparison of brachial artery characteristics data between pre- and post-training in interval aerobic group (INT).

	INT (n=14)			
	Baseline	After 12 weeks	T	P-value
Resting diameter (mm)	4.33±0.64	4.53±0.57	-1.7	0.11
Peak diameter (mm)	4.60±0.41	4.88±0.32*	-2.73	0.02
Flow-mediate dilatation (%)	5.4±1.1	7.4±0.9*	-3.41	0.00
Time to peak diameter (s)	61±17	62±14	-1.34	0.20
Shear rate at resting diameter (s ⁻¹)	37.7±2.3	36.0±2.6	1.05	0.31
Peak shear rate (s ⁻¹)	40.4±6.0	46.7±5.6*	-2.93	0.01

Data are mean±SEM

INT, interval aerobic training subjects. * P<0.05 of baseline vs. after training.

Table 4.28 The comparison of brachial artery characteristics data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at pre-training.

	Pre-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Resting diameter (mm)	4.41±0.61	4.38±0.71	4.33±0.64	0.34	0.72
Peak diameter (mm)	4.64±0.43	4.58±0.36	4.60±0.41	0.81	0.45
Flow-mediate dilatation (%)	5.1±1.3	4.8±1.6	5.4±1.1	0.08	0.93
Time to peak diameter (s)	59±8	64±15	61±17	1.19	0.31
Shear rate at resting diameter (s ⁻¹)	36.2±3.2	34.8±3.4	37.7±2.3	1.71	0.19
Peak shear rate (s ⁻¹)	38.2±5.5	42.5±4.7	40.4±6.0	1.53	0.23

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

Table 4.29 The comparison of brachial artery characteristics data among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON) at post-training.

	Post-training				
	SED	CON	INT	F	P-value
Resting diameter (mm)	4.47±0.67	4.41±0.73	4.53±0.57	0.16	0.86
Peak diameter (mm)	4.69±0.24	4.73±0.21	4.88±0.32	2.39	0.11
Flow-mediate dilatation (%)	5.6±1.8	6.1±1.8	7.4±0.9†#	8.22	0.00
Time to peak diameter (s)	61±14	61±12	62±14	0.72	0.49
Shear rate at resting diameter (s ⁻¹)	37.7±3.0	34.1±2.8	36.0±2.6	2.56	0.09
Peak shear rate (s ⁻¹)	42.1±4.3	43.9±3.9	46.7±5.6†	3.37	0.04

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

† P<0.05 vs. sedentary control subjects; # P<0.05 vs. continuous aerobic training subjects.

Table 4.30 The comparison of brachial artery characteristics data a between pre- and post-training and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

	SED (n=15)		CON (n=14)		INT(n=14)	
	Baseline	After 12 weeks	Baseline	After training	Baseline	After training
Resting diameter (mm)	4.41±0.61	4.47±0.67	4.38±0.71	4.41±0.73	4.33±0.64	4.53±0.57
Peak diameter (mm)	4.64±0.43	4.69±0.24	4.58±0.36	4.73±0.21	4.60±0.41	4.88±0.32*
Flow-mediate dilatation (%)	5.1±1.3	5.6±1.8	4.8±1.6	6.1±1.8*	5.4±1.1	7.4±0.9*†#
Time to peak diameter (s)	59±8	61±14	64±15	61±12	61±17	62±14
Shear rate at resting diameter (s ⁻¹)	36.2±3.2	37.7±3.0	34.8±3.4	34.1±2.8	37.7±2.3	36.0±2.6
Peak shear rate (s ⁻¹)	38.2±5.5	42.1±4.3	42.5±4.7	43.9±3.9	40.4±6.0	46.7±5.6*†

Data are mean±SEM

SED, sedentary control subjects; CON, continuous aerobic training subjects; INT, interval aerobic training subjects.

* P<0.05 of baseline vs. after training; † P<0.05 vs. sedentary control subjects; # P<0.05 vs. continuous aerobic training subjects.

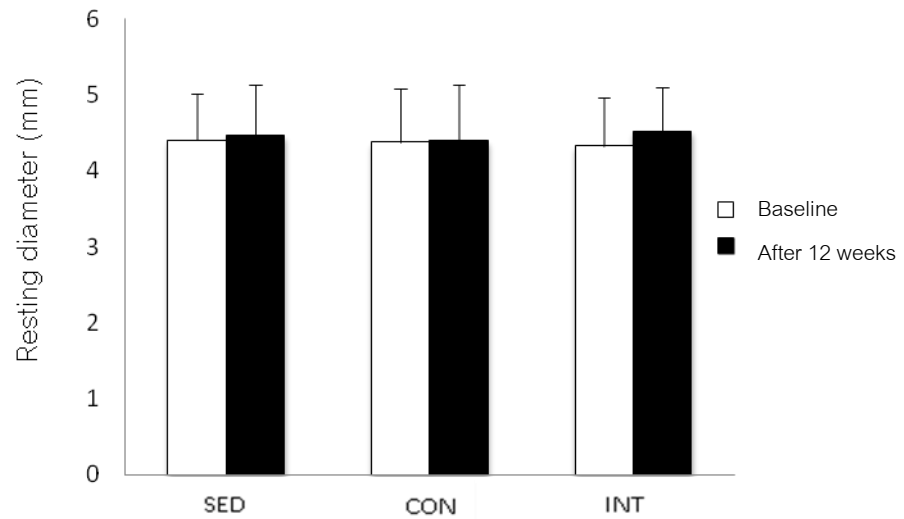
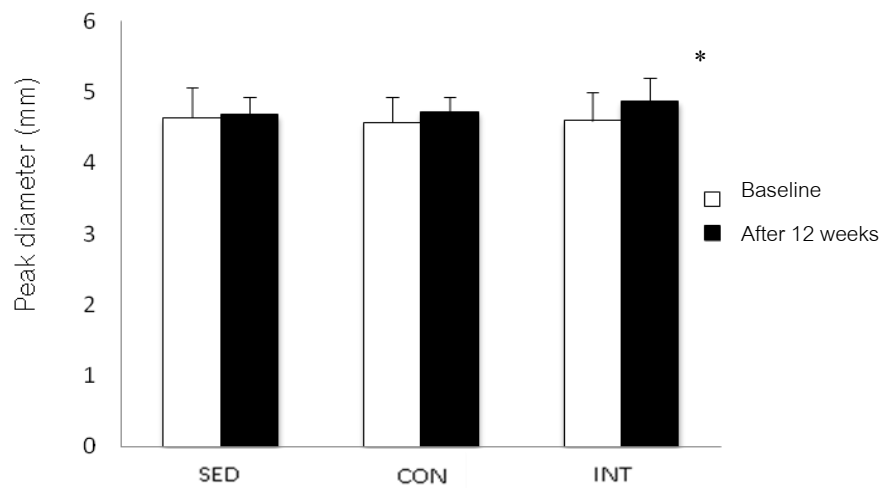
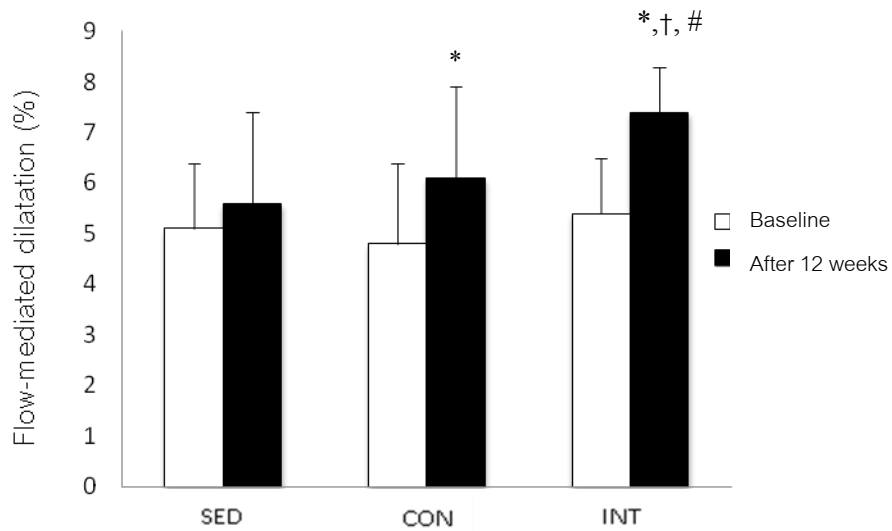


Figure 4.31 The comparative resting diameter between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks.

Figure 4.32 The comparative peak diameter flow between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* $P < 0.05$ of baseline vs. after 12 weeks; † $P < 0.05$ vs. sedentary control subjects; # $P < 0.05$ vs. interval aerobic training subjects.

Figure 4.33 The comparative flow-mediated dilatation between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

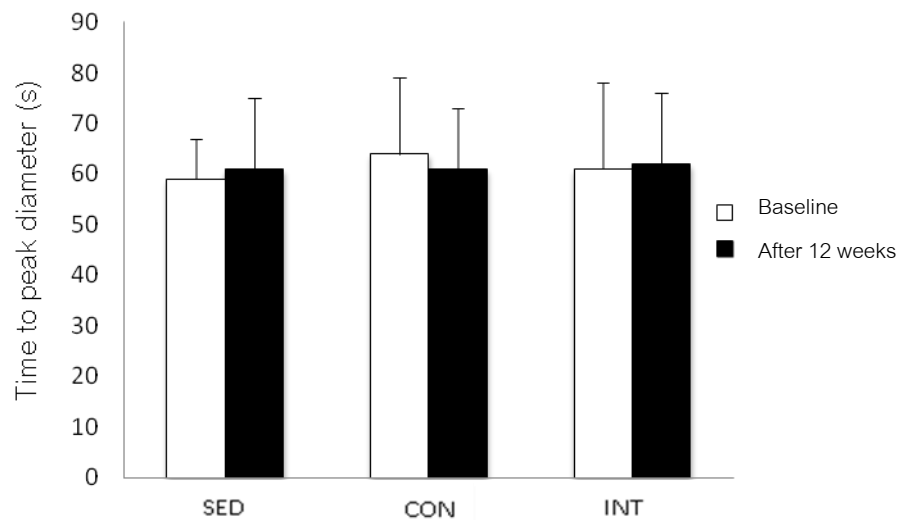


Figure 4.34 The comparative time to peak diameter between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

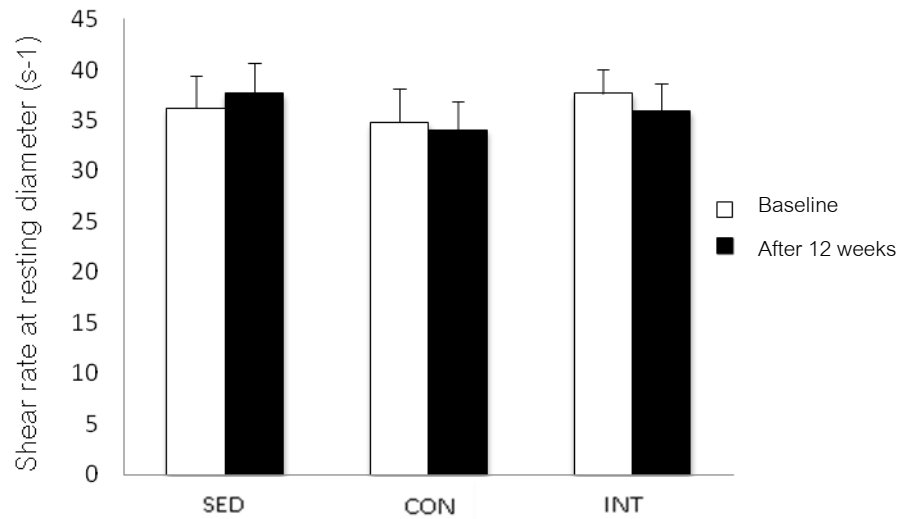
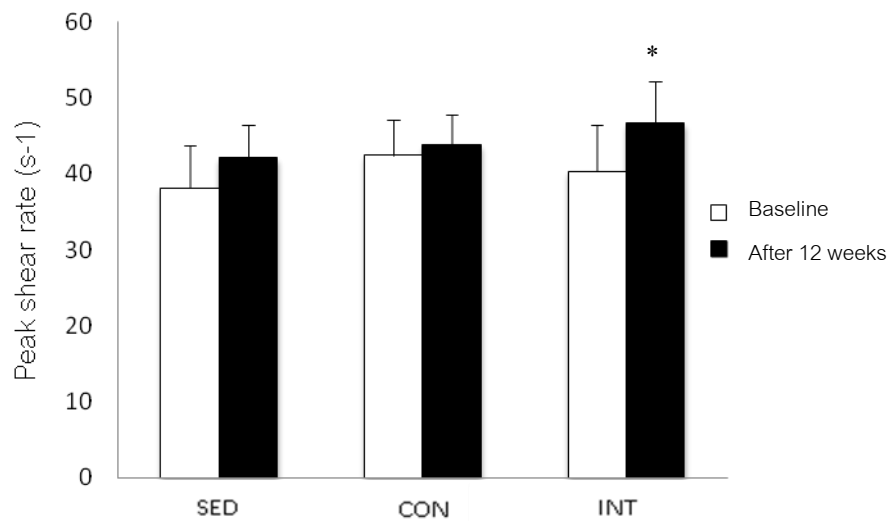


Figure 4.35 The comparative shear rate at resting diameter between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).



* P<0.05 of baseline vs. after 12 weeks; † P<0.05 vs. sedentary control subjects.

Figure 4.36 The comparative peak shear rate between baseline and after 12 weeks and among three groups of subjects: sedentary control group (SED), interval aerobic training group (INT) and continuous aerobic training group (CON).

CHAPTER V

DISCUSSION AND CONCLUSION

In this study, The experiment aims to investigate the effects of continuous and interval aerobic training on glycemic control and endothelial dependent vasodilatation in type 2 diabetes patients. Body mass, BMI, body fat percentage, waist-to-hip ratio, and resting heart rate decreased in both CON and INT groups. A significant decrease in systolic arterial blood pressure was only observed in the INT group. Leg extension strength increased in both exercise groups. But knee flexion strength was increased only in the INT group. Maximal oxygen consumption increased in both exercise groups; the magnitude of increase was greater in the INT group. No changes in physical characteristics and physical fitness measures were observed in the sedentary control group. For chemistry data, significant decrease in fasting glucose concentration and HOMA insulin resistance were observed in both the CON and INT groups. But only the INT group had a significant decrease in HbA1c levels. The lipid profiles improved significantly in both the CON and INT groups. Only the INT group demonstrated significant decrease in MDA level and increases in GPX, NO, and vWF. No significant changes in blood chemistry data were obtained in the sedentary control group. For vascular reactivity data, no significant changes in resting and maximal cutaneous blood flow were observed in all groups. The ratio of maximal to resting cutaneous blood flow increased in both exercise groups but the increase was significantly greater in the INT group. Similarly, FMD improved significantly ($p < 0.05$) in both the CON and INT groups, however the INT group showed a greater improvement compared with the SED and CON groups.

Comparison the effects of continuous aerobic training and interval aerobic training on health-related physical fitness

The present study, the results showed that the SED group showed no significant change in all parameters. Body mass, BMI, body fat percentage, waist-to-hip ratio, and resting heart rate decreased in both CON and INT groups. A significant decrease in systolic arterial blood pressure was only observed in the INT group.

Exercise training is known to benefit healthy individuals and patients with type 2 diabetes in many aspects such as body weight, health-related physical fitness, control of plasma lipoproteins, and decreasing the risk of cardiovascular disease (Jakicic et al., 2003; Kadoglou et al., 2007). Two programs of exercise training have been implemented for type 2 diabetes patients (T2DM): continuous aerobic training (CON) and interval aerobic training (INT). The results of our study have shown that the CON and INT groups had significant improve in health-related physical fitness parameters which were including body weight, body mass index, resting heart rate, fat mass, body fat, waist-to-hip ratio, muscle strengths and maximal O₂ consumption. Sigal et al. (2007) found that aerobic trainings in subjects with type 2 diabetes achieved similar results in both CON and INT groups. Recent revised joint American College of Sports Medicine and American Diabetes Association (2010) guidelines recommended, most diabetic individuals will require at least 150 min of moderate to vigorous aerobic exercise per week to achieve optimal CVD risk reduction. This study is one of few studies where interval training were performed in diabetic patients. The major finding of the present study is that, when estimated energy expenditure is equivalent, interval aerobic training is more effective compared to continuous training for improving glycemic control and vascular function in T2DM. In this study, we used the training protocol as four-six intervals of high-intensity work (80-85%VO₂peak)/low-intensity active recovery (50-60%VO₂peak) ratio of 1 min:4 min. While previous treadmill interval exercise for health studies used four intervals of 4 min at 80-90% VO₂peak following 3 min at 50-60%

VO₂peak (Rognmo et al., 2004) and four intervals of 4 min at 90-95% peak heart rate following 3 min at 50-70% peak heart rate (Wisloff et al., 2007). The difference points of our exercise protocol from other health and disease studies are the number of intervals performed, the duration of the recovery between bouts and a progression in training intensity. However, INT program in this study is still sufficient for improving aerobic capacity as previous studies. In addition, our study showed that maximal O₂ consumption improvement was significant superior in INT group than CON group which was concurred with the study of interval aerobic training in patients with coronary artery disease (Rognmo et al., 2004) and in the patients with coronary artery bypass surgery (Moholdt et al., 2009). The difference in maximal O₂ consumption in INT and CON groups may result from the effectiveness in O₂ consumption in mitochondria via the metabolic pathways such as increasing of PGC1alpha (Earnest, 2008). A high correlation between PGC1 alpha and VO₂peak (r=0.71) was found in heart failure patients (Wisloff et al., 2007). These results indicate that interval aerobic training had a more favorable for cardiorespiratory fitness improvement.

Comparison the effects of continuous aerobic training and interval aerobic training on glycemic control

In this study, the SED group showed no significant change in all parameters. The significant decrease in fasting blood glucose was observed in both the CON and INT groups. The significant decrease in HbA1c was observed only in INT group. Insulin resistance by homeostasis model assessment method (HOMA) showed significant decrease in both groups CON and INT there was no significant different among these two groups.

We found that both exercise training groups reduced fasting blood glucose concentration and insulin resistance as estimated by the HOMA. However, HbA1c, a long-term glycemic control marker, was significantly decreased only in the INT group. The reason for the larger improvement in glycemic control in INT group is not known. But

it may likely be related to the improved insulin signaling, insulin-stimulated glucose transport (Frosig et al., 2007), and/or the increased glucose transporter (GLUT-4) protein (Christ et al., 2004). Previous study has indicated that PGC-1 α , a critical coordinator for activation of metabolic genes required for substrate utilization and mitochondrial biogenesis, was increased by 138% with interval aerobic training in vastus lateralis muscle of patients with the metabolic syndrome, but this was not observed with moderate continuous training (Tjonna et al., 2008). PGC-1 α stimulates a powerful induction of NRF1 and NRF2 gene expression, which in turn stimulate GLUT-4 synthesis (Wu et al., 1999; Barr et al., 2002). Indeed total SIRT1 content, a proposed activator of PGC-1 α and mitochondrial biogenesis, and total GLUT4 protein content were significantly increased following low-volume high-intensity interval training in patients with type 2 diabetes (Little et al., 2011). Collectively, it seems reasonable to speculate that interval exercise training may have elevated PGC-1 α protein leading up to an increased GLUT-4 production subsequently resulted reductions in insulin resistance and hyperglycemia. Individuals with type II diabetes exhibit a reduced maximal O₂ consumption (VO₂max) compared with non-diabetic individuals even in the absence of often accompanying cardiovascular disease (Regensteiner et al., 1995). VO₂max is one of the most important predictors of insulin-stimulated glucose disposal rate (Seibaek et al., 2003). The mechanism underlying the association between VO₂max and insulin effectiveness is unclear. However, a high correlation between PGC-1 α and VO₂peak (r=0.71) has been reported in heart failure patients (Wisloff et al., 2007). Even though both exercise training groups increased VO₂max, the magnitude of improvement was significantly greater in the INT group than in the CON group. Our present results in type 2 diabetics are consistent with the previous studies in patients with coronary artery disease (Rognmo et al., 2004) and in the patients with coronary artery bypass surgery (Moholdt et al., 2009). It is possible that the greater improvement in the glycemic control in the INT group may be mediated by its effects on VO₂max.

Comparison the effects of continuous aerobic training and interval aerobic training on endothelial dependent vasodilatation

The present study, the results showed that the SED group showed no significant change in all parameters. HDL and LDL cholesterol were significantly improved in both CON and INT groups as compared to baseline. Only the INT group showed significant decreases in total total cholesterol, serum level of malondialdehyde and significant increases in glutathione peroxidase, nitric oxide and von Willeband factor.

Endothelial dysfunction plays a key role in the pathogenesis of diabetic angiopathy (Stehouwer et al., 1997). The flow-mediated dilation (FMD) test has emerged as the noninvasive standard for assessing in vivo endothelium-dependent vasodilation (Stoner et al., 2011). FMD reflects the response of endothelial cells to shear stress acting via release of nitric oxide (NO), prostacyclin (PC) and endothelial-derived hyperpolarizing factor (EDHF) (Clifford and Hellsten, 2004). Laser Doppler-derived measures of cutaneous blood flow (CBF) in response to post occlusive reactive hyperemia (PORH) has also widely used for this purpose. However, PORH should not be considered as a test for microvascular endothelial function itself, but could be used as a tool to detect overall changes in microvascular function (Roustit and Cracowski, 2011). Skin vasodilation is largely under the control of locally-released vasodilatory compounds, including NO, PC, prostaglandin (PG), bradykinin, and EDHF (Colberg et al., 2009). To our knowledge, this is the first study that examined both brachial artery responses to a reactive hyperemic stimulus and laser Doppler-derived skin perfusion indices in patients with type 2 diabetes. We found that both exercise training groups increased the FMD significantly. However, the improvement was greater in the INT group than in the CON group. Additionally, peak diameter of the brachial artery and peak shear rate were significantly increased only in the INT group. The general trend was the same for the cutaneous microvascular response as we found significant improvements in the ratio of maximal to resting cutaneous blood flow in both exercise

groups but the INT group showed significantly greater improvement. Our present results indicate that interval training may be superior to CON for enhancing macro- and micro-vascular function in patients with T2DM. It can be correlated with decreasing Von willebrand factor (vWF), an indicator of endothelial dysfunction (Lip and Blann, 1996). The significant decrease in vWF was observed only in INT group which indicated that INT group in our study should show the improvement of endothelial function.

Endothelial injury and endothelial dysfunction are the initial events of the atherosclerotic process (Mitchell et al., 2010). Endothelial injury can be induced by mechanical denudation, hemodynamic forces, immune complex deposition, irradiation, and chemicals. Reactive oxygen species (ROS) and excess vWF are chemicals that can induce endothelial injury while antioxidants can inhibit oxidative stress to the endothelial cells. Accumulation of lipoproteins, especially LDL cholesterol, in the arterial wall is the secondary pathogenic event. A high level of HDL cholesterol inhibits oxidation, inflammation, coagulation, and platelet aggregation, induces the release of NO from endothelial cells, and also has ability to remove cholesterol from cells via reverse cholesterol transport (Andrews et al., 2010). All of these properties may contribute to the ability of HDL cholesterol to protect against atherosclerosis. We can only speculate on the mechanisms by which the interval training would exert a greater effect on endothelial function. It seems reasonable to suggest that interval aerobic training increased blood flow and shear stress to a greater extent and, in turn, improved the NO bioavailability as well as endothelium-dependent vasodilation (Ribeiro et al., 2010). These functional measurement data are consistent with blood chemistry data in the present study. Only the INT group, but not the CON group, increased blood concentrations of NO and GPX and decreased blood MDA levels. The diminished level of reactive oxygen species, highly reactive and toxic compound has been attributed to the increase in endothelial NO production (Chakraphan et al., 2005). Thus, attenuated oxidative stress could be related to an enhancement of endothelial function after the interval training.

In summary, the effects of continuous and interval aerobic training on health-related physical fitness, glycemic control and micro- and macro vascular function were

conclude in figure 5.1 and 5.2. Continuous aerobic training induced improvement in micro- and macro-vascular function possible through 4 pathways: improved VO_2 max, decreased obesity, improved glycemic control and improved lipid profiles pathway. While interval aerobic training contributed to the improvement possible through 7 pathways. The results were similar in the first 4 pathways of continuous aerobic training and the interval aerobic training had additional effects on 5 to 7 pathways which were improved antioxidant, decreased ROS and increased NO production. These resulted in the better benefits in the interval aerobic training on micro- and macro-vascular function.

Conclusion

Both continuous aerobic training and interval aerobic training exercise programs exerted beneficial effects on glycemic control, physical fitness and micro- and macro-vascular function in type 2 diabetic patients. However, interval aerobic training was more effective than continuous aerobic training in many of those parameters and some improvements were observed only in the INT group. Therefore, interval training may be a safe, efficient, and effective strategy for the secondary prevention of chronic cardiovascular complications of type 2 diabetes.

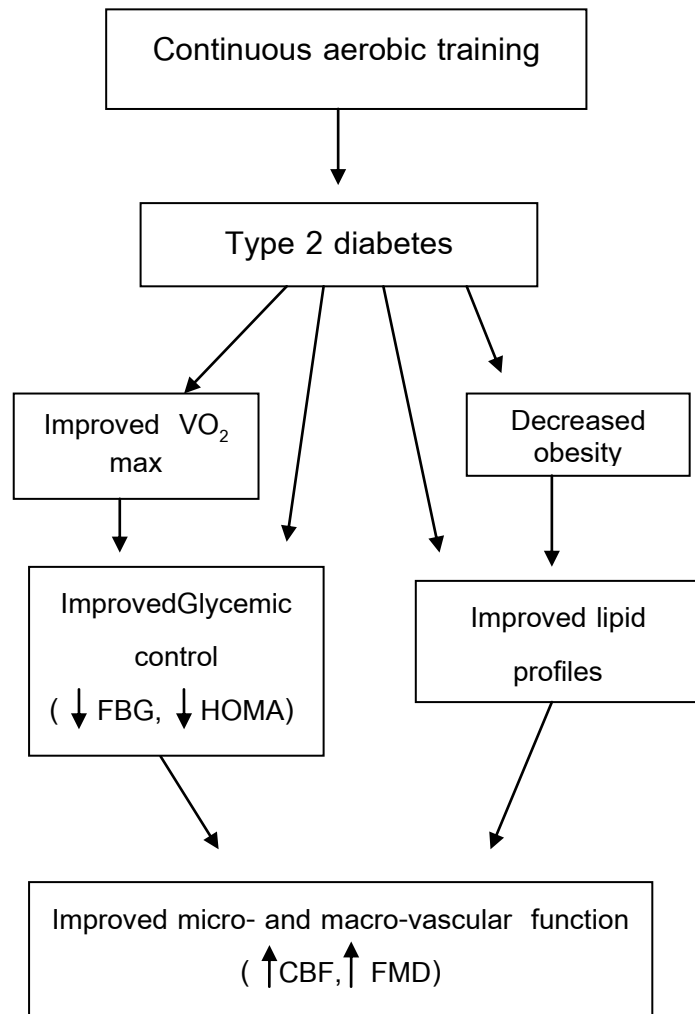


Figure 5.1 The mechanism of continuous aerobic training on micro- and macro-vascular function.

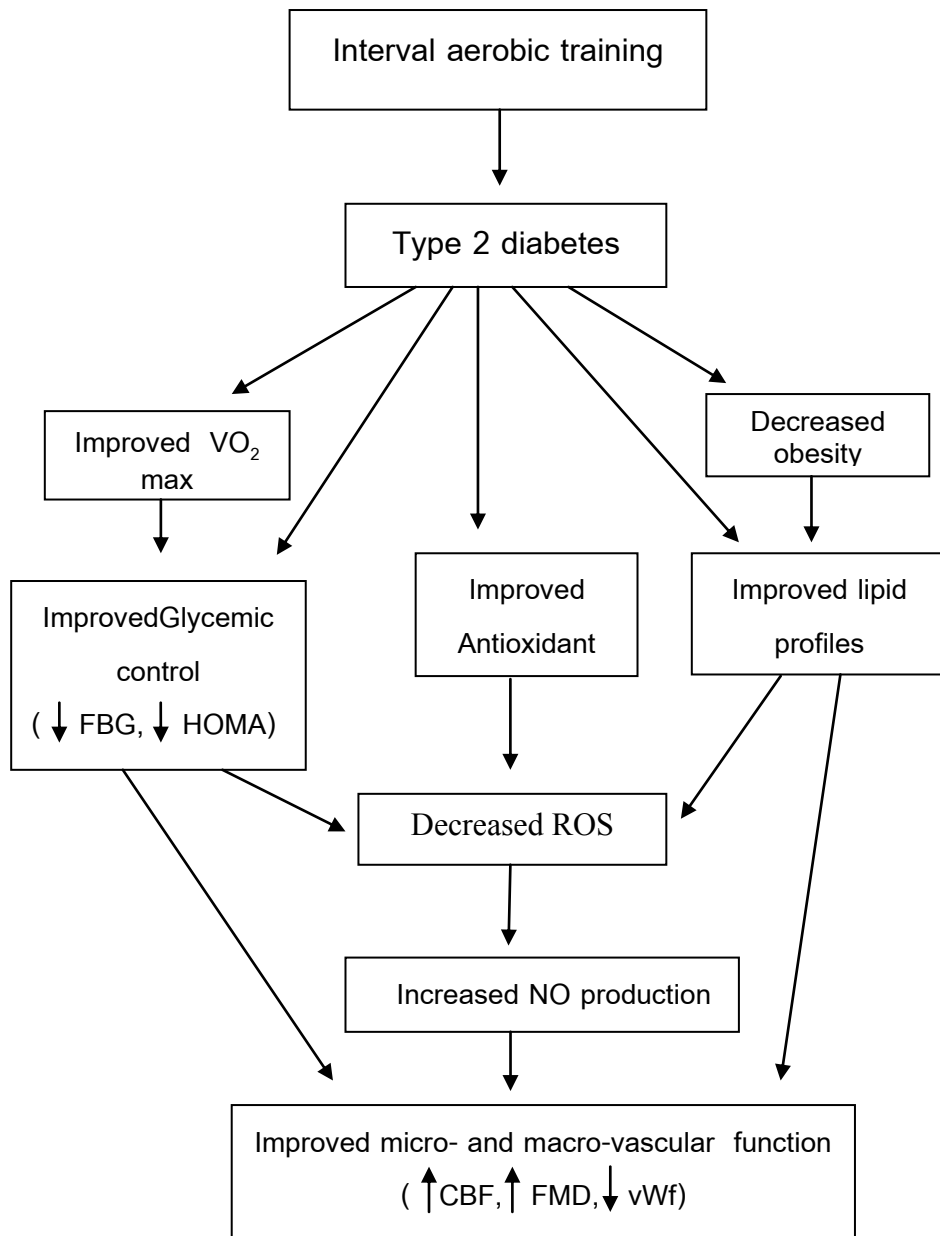


Figure 5.2 The mechanism of interval aerobic training on micro- and macro-vascular function.

Limitation of this study

1. Due to included only 7-9 % of HbA1c (moderate severity), finding participants is difficult.

2. In this study, we could not control daily life behaviors of our subjects which may affect the results of biological data, blood chemistry and blood flow data.

Suggestion for further research

1. To explain the mechanism of interval aerobic training deeply, other parameters i.e. PGC-1 α , GLUT4 and insulin signalings should be included.

2. The interval aerobic training should be applied in other types of diabetes i.e. type 1.

3. The difference between duration of the recovery between bouts and a progression in interval aerobic training intensity should be compared.

REFERENCES

- Abdul-Ghani, M.A., DeFronzo, R.A. Review Article: Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2010 (2010): 1-19.
- ACSM. ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- Al-Delaimy, W.K., Willett, W.C., Manson, J.E., Speizer, F.E., Hu, F.B. Smoking and mortality among women with type 2 diabetes: The Nurses' Health study cohort. Diabetes Care 12 (2001): 2043-2058.
- Andrews, K.L., Moore, X.L., Chin-Dusting, J.P. Anti-atherogenic effects of high density lipoprotein on nitric oxide synthesis in endothelium. Clin Exp Pharmacol Physiol (2010): (in press).
- American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association. Exercise and Type 2 Diabetes. Med Sci Sport & Exerc 42 (2010): 2282-2303.
- American Diabetes Association. Standard of medical care in diabetes. Diabetes Care 36 (2013): S11-36.
- Baar, K., Wendt, A.R., Jones, T.E., Marison, M., Nolte, L.A., Chen, M., Kelly, D.P., Holloszy, J.O. Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. FASEB J 16 (2002): 1879-1886.
- Badimon, L., Badimon, J.J., Chesebro, J.H., Fuster, V. von Willerrand factor and cardiovascular disease. Thrombo Haemost 70 (1993): 111-118.
- Bhargava, K., Hansa, G., Bansal, M., Tandon, S. Endothelium-dependent brachial artery flow mediated vasodilatation in patients with diabetes mellitus with and without coronary artery disease. J Assoc Physicians India 51 (2003): 355-358.
- Bonora, E., Formentini, G., Calcaterra, F. et al. HOMA-estimate insulin resistance is an independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects: prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. Diabetes Care 25 (2002): 1135-1141.

- Caballero, A.E., Arora, S., Saouaf, R. et al. Microvascular and microvascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. Diabetes 48 (1999): 1856-1862.
- Chakraphan, D., Sriduyaku, P., Thipakorn, B., Bunnag, S.C., Virginia, V.H., Patumraj, S. Attenuation of endothelial dysfunction by exercise training in STZ-induced diabetic rats. Clin Hemorheol Microcircul 32 (2005): 217-226.
- Christ-Roberts, C.Y., Pratipanawatr, T., Pratipanawatr, W., Berria, R., Belfort, R., Kashyap, S., Mandarino, L.J. Exercise training increases glycogen synthase activity and GLUT4 expression but not insulin signaling in overweight non diabetic and type 2 diabetic subjects. Metab 53 (2004): 1233-1242.
- Clifford, P.S., Hellsten, Y. Vasodilatory mechanisms in contracting skeletal muscle. J Appl Physiol 97 (2004): 393-403.
- Clough, G., Chipperfield, A., Byrne, C., de Mul, F., Gush, R.G. Evaluation of a new high power, wide separation laser Doppler probe: Potential measurement of deeper tissue blood flow. Microvasc Res 78 (2009): 155-161.
- Cohen, N.D., Dunstan, D.W., Robinson, C., Vulikh, E., Zimmet, P.Z., Shaw, J.E. Improved endothelial function following a 14-months resistance exercise training program in adults with type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract 79 (2008): 405-411.
- Colberg, S.R., Azoury, K.R., Parson, H.K., Vinik, A.I. Exercise status affects skin perfusion via prostaglandin, nitric oxide, and EDHF pathways in diabetes. Microvascular Res 77 (2009): 120-124.
- Corretti, M., Anderson, T.J., Benjamin, E.J., Celermajer, D., Charbonneau, F., Creager, M.A., Deanfield, J., Drexler, H., Gerhage-Herman, M., Herrington, D., Vallance, P., Vita, J., Vogel, R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. J Am Coll Cardiol 39 (2002): 257-265.
- D'Agostino, Sr. R.B., Vasan, R.S., Pencina, M.J., Wolf, .PA., Cobain, M., Massaro, J.M., Kennel, W.B. General cardiovascular risk profile for use in primary care. The Framingham Heart study. Circulation 117 (2008): 743-753.

- Deanfield, J., Donald, A., Ferri, C., et al. Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular bed: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. J Hypertens 23 (2005): 7-17.
- DECODE study. Glucose tolerance and mortality: Comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. The DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis of diagnostic criteria in Europe. Lancet 354 (1999): 617-621.
- De Filippis, E., Cusi, K., Ocampo, G., Berria, R., Buck, S., Consoli, A., Mandarino, L.J. Exercise-induced improvement in vasodilatory function accompanies increased insulin sensitivity in obesity and type 2 diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 91 (2006): 4903-4910.
- Del Rio, D., Stewart, A.J., Pellegrini, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr Metab Cardiovasc Dis 15 (2005): 316-328.
- De Vriese, A.S., Verbeuren, T.J., Voorde, J.V., Lameire, N.H., Vanhoutte, P.M. Review Endothelial dysfunction in diabetes. British Journal of Pharmacology 130 (2000): 963-974.
- Dhindsa, M., Sommelad, S.M., DeVan, A.E., Barnes, J.N., Sugawara, J., Ley, O., Tanaka, H. Interrelationships among noninvasive measures of postischemic macro-and microvascular reactivity. J Appl Physiol 105 (2008): 427-438.
- Duckworth, W.C. Hyperglycemia and cardiovascular disease. Curr Atheroscler Rep 3 (2001): 383-391.
- Dunstan, D.W., Daly, R.M., Owen, N., Jolley, D., De couten, M., Shaw, J., Zimmer, P. High-intensity resistance training improves glycemic control in older patients with type 2 diabetes. Diabetes Care 25 (2002): 1729-1736.
- Earnest, C.P. Exercise interval training: an improved stimulus for improving the physiology of pre-diabetes. Med Hypotheses 71 (2008): 752-761.

- Endermann, D.H., Schiffrin, E.L. Endothelial dysfunction. J Am Soc Nephrol 15 (2004): 1983-1992.
- Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A., Grodsky, G.M. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes Endocrine Reviews 23 (2002): 599–622.
- Frankel, D.S., Meigs, J.B., Massoro, J.M. et al. von Willebrand factor, type 2 diabetes mellitus, and risk of cardiovascular disease. The Framingham Offspring Study. Circulation 118 (2008): 2533-2539.
- Frøsig, C., Rose, A.J., Treebak, J.T., Kiens, B., Richter, E.A., Wojtaszewski, J.F. Effects of endurance exercise training on insulin signalling in human skeletal muscle Interactions at the level of PI3-K, Akt and AS160. Diabetes 56 (2007): 2093-2102.
- Gligorsky MS. Endothelial cell dysfunction: can't live with it, how to live with it. Am J Physiol 288 (2005): F871-88.
- Gutterman, D.D. Mitochondria and reactive oxygen species: an evaluation in function. Cir Res 97 (2005): 302-304.
- Hamed, S., Brenner, B., Roguin, A. Nitric oxide: a key factor behind the dysfunctionally of endothelial progenitor cells in diabetes mellitus type 2. Cardiovasc Res 9 (2011): 9-15.
- Hseuh, W.A., Quinones, M.J. Role of endothelial dysfunction in insulin resistance. Am J Cardiol 92 (2003): 10J-17J.
- Jakicic, J.M., Marcus, B.H., Gallager, K.I., Napolitano, M., Lang, W. Effect of exercise duration and intensity on weight loss in overweight, sedentary women: a randomized trial. JAMA 290 (2003): 1323-1330.
- Jax, T.W., Peters, A.J., Plehn, G., Schoebel, F.C. Relevance of hemostatic risk factors on coronary morphology in patients with diabetes mellitus type 2. Cardiovasc Diabetol 8 (2009): 24-31.
- Kadoglou, N.P., Iliadis, F., Angelopoulou, N., Perrea, D., Ampatzidis, G., Liapis, C.D., Alevizos, M. The anti-inflammatory effects of exercise training in patients with type 2 diabetes mellitus. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 14 (2007): 837-843.

- Knowles, R.G., Moncada, S. Nitric oxide synthase in mammals. Biochem J 289 (1994): 249-258.
- Kolluru, G.K., Bir, S.C., Kevil, C.G. Review article Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. Int J Vasc Med 2012: 1-30.
- Kollura GP, Bir SC, Kevil CG. Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling and wound healing. Review Article. Intern J Vasc Med 2012 (in press)
- La Civita, L., Rossi, M., Vaghegini, G., Storino, F.A., Credidio, L., Pasero, G., Guistic, Ferri, C. Microvascular involvement in systemic sclerosis: laser Doppler evaluation of reactivity to acetylcholine and sodium nitroprusside in iontophoresis. Ann Rheum Dis 57 (1998): 52-55.
- Lee, I.M., Sesso, H.D., Oguma, Y., Paffenbarger, R.S. Relative intensity of physical activity and risk of coronary heart disease. Circulation 107 (2003): 1110-1116.
- Lip, G.Y.H., Blann, A. Review. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? Cardiovasc Res 34 (1997): 255-265.
- Little, J.P., Gillen, J.B., Percival, M.E., Safdar, A., Tarnopolsky, M.A., Punthakee, Z., Jung, M.E., Gibala, M.J. Low-volume high-intensity interval training reduces hyperglycemia and increases muscle mitochondrial capacity in patients with type 2 diabetes. J Appl Physiol 111 (2011): 1554-1560.
- Maiorana, A., O'Driscoll, G., Cheetham, C., et al. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes. J Am Coll Cardio 38 (2001): 860-866.
- Manninen, V., Tenkanen, L., Koskinen, P., Huttunen, J.K., Manttari, M., Heinonen, O.P., Frick, M.H. Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment. Circulation 85 (1992): 37-45.

- Marcus, R.L., Smith, S., Morrell, G. et al. Comparison of combined aerobic and high-force eccentric resistance exercise with aerobic exercise only for people with type 2 diabetes mellitus. Phys Ther 88 (2008): 1345-1354.
- Middlebrooke, A.R., Elston, L.M., Macleod, K.M., Mawson, D.M., Ball, C.I., Shore, A.C., Took, J.E. Six months of aerobic exercise does not improve microvascular function in type 2 diabetes mellitus. Diabetologia 49 (2006): 2263-2271.
- Mitchell, R.N., Schoen, F.J. Blood Vessels. In Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran Pathological Basis of Disease. Eighth Edition, Saunders Co., Philadelphia, USA (2010): 496-506.
- Moholdt, T.T., Amundsen, B.H., Rustad, L.A., Wahba, A., Lovo, K.T., Gullikstad, L.R., Bye, A., Skogvoll, E., Wisloff, U., Slordahl, S.A. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise after coronary artery bypass surgery: A randomized study of cardiovascular effects and quality of life. Am Heart J 158 (2009): 1031-1037.
- Molyneaux, L.M., Constantino, M.I., McGill, M., Zilkens, R., Yue, D.K. Better glycemic control and risk of diabetic complication in type 2 diabetes: comparison with DCCT. Diabetes Res Clin Pract 42 (1998): 77-83.
- Morales, F., Reindert, G., Andries, J.S., Silvia, B., Anna, L.P., Winendelt, S., Phoilippe, L., Gerhard, R. How to assess post-occlusive reactive hyperemia by means of laser Doppler perfusion monitoring; application to patients with peripheral arterial occlusive disease. Microvascular research. 69 (2005): 17-23.
- Montagnani, M., Chen, H., Barr, V.A., Quon, M.J. Insulin-stimulate activation of eNOS is independent of Ca^{2+} but requires phosphorylation by Akt at Ser (1179). J Biol Chem 276 (2001): 30392-30398.
- Myers, V.H., McYay, M.A., Brachear, M.M. et al. Exercise training and quality of life in individuals with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. Diabetes Care 2013; (in press).

- Petrofsky, J.S. The effect of type-2 diabetes-related vascular endothelial dysfunction on skin physiology and activities of daily living. J Diabetes Sci Techno 5 (2011): 657-667.
- Praet, S.F., Jonkers, R.A., Schep, G. et al. Long-standing, insulin-treated type 2 diabetes patients with complications respond well to short-term resistance and interval exercise training. Eur J Endocrino 158 (2008): 163-172.
- Preis, S.R., Pencina, M.J., Mann, D.M., D'Agostino, R.B.Sr., Savage, P.J., Fox, C.S. Early-adulthood cardiovascular risk factor profiles among individuals with and without diabetes in the Framingham Heart Study. Diabetes Care (2013) (in press)
- Pryor, W.A., Stanley, J.P. Suggested mechanism for production of malonaldehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonezymic production of prostaglandin endoperoxide during autoxidation. J Org Chem 40 (1975): 3615-3617.
- Purnell, J.Q., Zinman, B., Brunzell, JD; DCCT/EDIC Research Group. The effect of Excess Weight Gain With Intensive Diabetes Mellitus Treatment on Cardiovascular Disease Risk Factors and Atherosclerosis in Type 1 Diabetes Mellitus: Results From the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications study (DCCT/EDIC) study. Circulation 127 (2013): 180-187.
- Pyke, K.E., Hartnett, J.A., Tschakovsky, M.E. Are the dynamic response characteristics of brachial artery flow-mediated dilation sensitive to magnitude of increase in shear stimulus? J Appl Physiol 105 (2008): 282-292.
- Regensteiner, J.G., Sippel, J., McFarling, E.T., Wolfel, E.E., Hiatt, W.R. Effect of non-insulin-dependent diabetes on oxygen consumption during treadmill exercise. Med Sci Sports Exerc 27 (1995): 661-667.
- Ribeiro, F., Alves, A.J., Duarte, J.A., Oliveira, J. Is exercise training an effective therapy targeting endothelial dysfunction and vascular wall inflammation? Int J Cardiol 141 (2010): 214-221.

- Rognmo, O., Hetland, E., Helgerud, J., Hoff, J., Slordahl, S.A. High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 11 (2004): 216-222.
- Rosenzweig JL, Weinger K, Solomon LP, Rushton M. Use of a disease severity index for evaluation of healthcare costs and management of comorbidities of patients with diabetes mellitus. Am J Manag Care 2002;8(11):950-8
- Roustit, M., Cracowski, J.L. Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: An insight into methods. Microcirculation 19 (2012): 47–64.
- Seibaek, M., Vestergaard, H., Burchardt, H., Sloth, C., Torp-Pedersen, C., Nielsen, S.L., Hildebrandt, P., Pedersen, O. Insulin resistance and maximal oxygen uptake. Clin Cardiol 26 (2003): 515-520.
- Sadler, J.E. Biochemistry and genetic of von Willebrand factor. Annu Rev Biochem 67 (1998): 395-424.
- Shoback, edited by David G. Gardner, Dolores (2011) *Greenspan's basic & clinical endocrinology* (9th ed.). New York: McGraw-Hill Medical. pp. Chapter 17.
- Sies, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Exp Physiol 82 (1997): 291-295.
- Sigal, R.J., Kenny, G.P., Boule, N.G., Wells, G.A., Prudhomme, D., Fortier, M., Reid, R.D., Tulloch, H., Coyle, D., Phillips, P., Jennings, A., Jaffey, J. Effects of aerobic training, resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes. Ann Intern Med 147 (2007): 357-369.
- Sigal, R.J., Kenny, J.P., Wasserman, D.H., Castanceda-Sceppa, C., White, R.D. Physical activity/exercise and type 2 diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. Diabetes Care 29 (2006): 1433-1438.
- Stehouwer, C.D.A., Nauta, J.J.P., Zeldenrust, G.C. et al. Urinary albumin excretion, cardiovascular disease, and endothelial dysfunction in non-insulin dependent diabetes mellitus. Lancet 340 (1992): 319-323.
- Stehouwer, C.D., Lambert, J., Donker, A.J., van Hinsbergh, V.W. Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. Cardiovasc Res 34 (1997): 55–68.

- Stoner, L., Young, J.M., Fryer, S., Sabatier, M.J. The importance of velocity acceleration to flow-mediated dilation. Int J Vasc Medi 2012 (2012): 1-11.
- Stratton, I.M., Alder, A.I., Neil, N.A., et al. Association of glycemia with macrovascular and microvascular complication of type 2 diabetes: prospective observational study. BMJ 32 (2000): 504-512.
- Stumvoll, M., Goldstein, B.J., Haeften, T.W. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. Lancet 365 (2005): 1333-1346.
- Tanasescu, M., Leitzmann, M.F., Rimm, E.B., Willett, W.C., Stampfer, M.J., Hu, F.B. Exercise type and intensity in relation to coronary heart disease in men. JAMA 288 (2002): 1994–2000.
- The emerging risk factor collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. Lancet 375 (2010): 2215-2222.
- Thijssen, D.H., Black, M.A., Pyke, K.E., et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. Am J Physio Heart Circ Physio 300 (2011): 42-12.
- Tirosh, A., Potashnik, R., Bashan, N., Rudich, A. Oxidative stress disrupts insulin-induced cellular redistribution of insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase in 3T3-L1 adipocytes: a putative cellular mechanism for impaired protein kinase B activation and GLUT4 translocation. The Journal of Biological Chemistry 274 (1999): 10595–10602.
- Tjonna, A.E., Lee, S.J., Rognmo, O., Stølen, T.O., Bye, A., Haram, P.M., Loennechen, J.P., Al-Share, Q.Y., Skogvoll, E., Slørdahl, S.A., Kemi, O.J., Najjar, S.M., Wisløff, U. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome. A pilot study. Circulation 118 (2008): 346-354.
- Turner, R.C., Holman, R.R., Matthews, D., Hockaday, T.D., Peto, J. Insulin deficiency and insulin resistance interaction in diabetes: estimation of their relative contribution by feedback analysis from basal plasma insulin and glucose concentration. Metab 28 (1979): 1086-1096.

- Virdis, A., Ghiadoni, L., Gianarelli, C., Taddei, S. Endothelial dysfunction and vascular disease in later life. Maturitas 67 (2010): 20-24
- Wassmann, S., Wassmann, K., Nickernig, G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. Hypertension 44 (2004): 381-386.
- Williams, A.D., Almond, J., Ahuja, K.D., Beard, D.C., Robertson, I.K., Ball, M.J. Cardiovascular and metabolic effects of community based resistance training in an older population. J Sci Med Sport 14 (2001): 331-337.
- Williams text Book of Endocrinology, (12th ed). Philadelphia Elsevier/Saunders. ISBN 978-1-4377-0324-5, pp 1371-1375.
- Wisløff, U., Støylen, A., Loennechen, J.P., Bruvold, M., Rognum, Ø., Haram, P.M., Tjønnå, A.E., Helgerud, J., Slørdahl, S.A., Lee, S.J., Videm, V., Bye, A., Smith, G.L., Najjar, M., Ellingsen, Ø., Skjærpe, T. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients. Circulation 115 (2007): 3086-3094.
- Wu, Z., Puigserver, P., Anderson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R.C., Spiegelman, B.M. Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. Cell 98 (1999): 115-124.

APPENDICES

APPENDIX A

The Institutional Review Board : Certificate of Approval

APPENDIX A

The Institutional Review Board : Certificate of Approval



COA No. 516/2012
IRB No. 182/55

INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

1873 Rama 4 Road, Patumwan, Bangkok 10330, Thailand, Tel 662-256-4455 ext 14, 15

Certificate of Approval

The Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, has approved the following study which is to be carried out in compliance with the International guidelines for human research protection as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline and International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

Study Title : A COMPARISON BETWEEN THE EFFECTS OF CONTINUOUS AND INTERVAL AEROBIC TRAINING ON GLYCEMIC CONTROL AND ENDOTHELIAL DEPENDENT VASODILATATION IN TYPE 2 DIABETES PATIENTS

Study Code :-

Principal Investigator : Dr.Daroonwan Suksom


Study Center : Faculty of sports science, Chulalongkorn University.

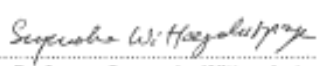
Review Method : Full board

Continuing Report : Every 6 months.

Document Reviewed :

1. Full Protocol Version 2.0 Date 17 July 2012
2. Protocol Synopsis Version 1.0 Date 3 Apr 2012
3. Questionnaire used in this study Version 2.0 Date 16 July 2012
4. The physiological data. Biochemical substances in the blood Version 2.0 Date 17 July 2012
5. I record the performance test Version 2.0 Date 17 July 2012
6. Information sheet for research participant Version 2.0 Date 17 July 2012
7. Budget Version 2.0 Date 16 July 2012
8. Consent Form Version 2.0 Date 16 July 2012

Signature:  (Emeritus Professor Tada Suwanvong MD)
Chairperson
The Institutional Review Board

Signature:  (Associate Professor Supeecha Wittayalerpanya)
Member and Assistant Secretary, Acting
Secretary The Institutional Review Board

Date of Approval : July 24, 2012
Approval Expire Date : July 23, 2013

Approval granted is subject to the following conditions: (see back of this Certificate)

All approved investigators must comply with the following conditions:

1. Strictly conduct the research as required by the protocol;
2. Use only the information sheet, consent form (and recruitment materials, if any), interview outlines and/or questionnaires bearing the Institutional Review Board's seal of approval ; and return one copy of such documents of the first subject recruited to the Institutional Review Board (IRB) for the record;
3. Report to the Institutional Review Board any serious adverse event or any changes in the research activity within five working days;
4. Provide reports to the Institutional Review Board concerning the progress of the research upon the specified period of time or when requested;
5. If the study cannot be finished within the expire date of the approval certificate, the investigator is obliged to reapply for approval at least one month before the date of expiration.

* A list of the Institutional Review Board members (names and positions) present at the meeting of Institutional Review Board on the date of approval of this study has been attached. All approved documents will be forwarded to the principal investigator.



COA No. 516/2012
IRB No. 182/55

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
1873 ถนนพหลโยธิน เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2256-4455 คอ 14, 15

เอกสารรับรองโครงการวิจัย

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากลได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline และ International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

ชื่อโครงการ : การเปรียบเทียบผลของการฝึกแอโรบิกแบบต่อเนื่องและการฝึกแอโรบิกแบบสลับช่วงที่มีต่อการควบคุมระดับน้ำตาลและการขยายหลอดเลือดผ่านการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในผู้ป่วย ภาวะเบาหวานประเภทที่ 2

เลขที่โครงการวิจัย : -

ผู้วิจัยหลัก : รศ.ดร.ศุภนภวรรณ สุรสัม


สังกัดหน่วยงาน : คณะวิทยาศาสตร์การกีฬา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


วิธีทบทวน : คณะกรรมการเต็มชุด

รายงานความก้าวหน้า : ส่งรายงานความก้าวหน้าอย่างน้อยทุก 6 เดือน

เอกสารรับรอง :

1. โครงร่างวิจัยฉบับเต็ม Version 2.0 Date 17 July 2012
2. โครงการวิจัยฉบับย่อ Version 1.0 Date 3 Apr 2012
3. แบบสอบถามที่ใช้ในการวิจัย Version 2.0 Date 16 July 2012
4. แบบบันทึกข้อมูลทางสรีรวิทยา สารชีวเคมีในเลือด Version 2.0 Date 17 July 2012
5. แบบบันทึกข้อมูลการทดสอบสุรสัมประเภท: Version 2.0 Date 17 July 2012
6. เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 2.0 Date 17 July 2012
7. จบประมาณ Version 2.0 Date 16 July 2012
8. เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 2.0 Date 16 July 2012

ลงนาม 
(ศาสตราจารย์กิตติคุณแพทย์หญิงธาดา สืบพลินวงศ์)
ประธาน
คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

ลงนาม 
(รองศาสตราจารย์สุจิตรา วิทยเสถียรปัญญา)
กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการปฏิบัติหน้าที่แทนเลขานุการ
คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

วันที่รับรอง : 24 กรกฎาคม 2555

วันหมดอายุ : 23 กรกฎาคม 2556

ทั้งนี้ การรับรองนี้มีเงื่อนไขดังที่ระบุไว้ด้านหลังทุกข้อ (ดูด้านหลังของเอกสารรับรองโครงการวิจัย)

นักวิจัยทุกท่านที่ผ่านการรับรองจริยธรรมการวิจัยต้องปฏิบัติตามดังต่อไปนี้

1. ดำเนินการวิจัยตามที่ระบุไว้ในโครงการวิจัยอย่างเคร่งครัด
2. ให้เอกสารแนะนำอาสาสมัคร ใบยินยอม (และเอกสารเชิญเข้าร่วมวิจัยหรือใบโฆษณาถ้ามี) แบบสัมภาษณ์ และหรือ แบบสอบถาม เฉพาะที่มีตราประทับของคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมเท่านั้น และส่งสำเนาเอกสารดังกล่าวที่ใช้กับผู้เข้าร่วมวิจัยจริงมายังฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ เพื่อกำกับให้เป็นหลักฐาน
3. รายงานเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ร้ายแรงที่เกิดขึ้นหรือการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมวิจัยใดๆ ต่อคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย ภายใน 5 วันทำการ
4. ส่งรายงานความก้าวหน้าต่อคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย ตามเวลาที่กำหนดหรือเมื่อได้รับการร้องขอ
5. หากการวิจัยไม่สามารถดำเนินการเสร็จสิ้นภายในกำหนด ผู้วิจัยต้องยื่นขออนุมัติใหม่ก่อนอย่างน้อย 1 เดือน
6. หากการวิจัยเสร็จสมบูรณ์ผู้วิจัยต้องแจ้งปิดโครงการตามแบบฟอร์มของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

* รายชื่อของคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน (ชื่อและตำแหน่ง) ที่อยู่ในที่ประชุมวันที่รับรองโครงการวิจัยได้แนบมาด้วย เอกสารที่รับรองทั้งหมดจะถูกส่งไปยังผู้วิจัยหลัก

APPENDIX B

Physical Activity Readiness Questionnaire ; PAR-Q

APPENDIX B

Physical Activity Readiness Questionnaire ; PAR-Q

แบบสอบถามที่ใช้ในการวิจัย

รหัส.....

แบบประเมินความพร้อมก่อนออกกำลังกาย (Physical activity readiness questionnaire; PAR-Q)

การออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอเป็นผลดีต่อสุขภาพและมีความสนุกสนาน ประชาชนจำนวนมากเริ่มสนใจที่จะเข้าร่วมออกกำลังกายมากขึ้นทุกวัน โดยทั่วไปการออกกำลังกายหนักปานกลางค่อนข้างปลอดภัยสำหรับคนส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตาม...

ถ้าท่านมีแผนการที่จะออกกำลังกายหนักปานกลางมากกว่าที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน กรุณาตอบคำถามทั้ง 7 ข้อข้างล่างนี้ ถ้าท่านมีอายุระหว่าง 15-69 ปี การตอบคำถามในแบบประเมินจะช่วยบอกว่าคุณสมควรได้รับการตรวจร่างกายจากแพทย์...

โปรดอ่านอย่างละเอียดและตอบคำถามเหล่านี้ตามความเป็นจริงว่า มี / เคย หรือ ไม่มี / ไม่เคย ในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา

- 1. แพทย์ที่ตรวจรักษาท่าน เคยบอกหรือไม่ว่า ท่านมีความผิดปกติของหัวใจ และควรออกกำลังกาย ภายใต้อำนาจแนะนำของแพทย์เท่านั้น
2. ท่านมีความรู้สึกเจ็บปวดหรือแน่นบริเวณหน้าอก ขณะที่ท่านออกกำลังกายหรือไม่?
3. ในรอบเดือนที่ผ่านมา ท่านเคยมีอาการเจ็บแน่นหน้าอก ในขณะที่อยู่เฉยๆ โดยไม่ได้ออกกำลังกายหรือไม่?
4. ท่านมีอาการสูญเสียการทรงตัว (เวียนหรือเดินเซ) เนื่องจากอาการเวียนศีรษะหรือไม่? หรือท่านเคยเป็นลมหมดสติหรือไม่?
5. ท่านมีปัญหาที่กระดูกหรือข้อต่อ ซึ่งจะมีอาการบวม ถ้าออกกำลังกายหรือไม่?
6. แพทย์ที่ตรวจรักษาท่าน มีการสั่งยารักษาโรคความดันโลหิตสูง หรือความผิดปกติของหัวใจให้ท่านหรือไม่?
7. เท่าที่ท่านทราบ ยังมีเหตุผลอื่นๆ อีก ที่ทำให้ท่านไม่สามารถออกกำลังกายได้หรือไม่?

ที่มา : ACSM, 2000.

ข้าพเจ้าได้อ่านได้ทำความเข้าใจและกรอกแบบ PAR-Q ทุกคำถามด้วยความเต็มใจ

ลงชื่อ..... ผู้เข้าร่วมกิจกรรม วันที่...../...../.....

ลงชื่อ..... ผู้ทำการวิจัย

(รศ.ดร.ศุภวรรณ สุธรรม)



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD Faculty of Medicine, Chulalongkorn University IRB No. 142 / 55 Date of Approval 24 P.A. 2555

APPENDIX C
General health questionnaire

APPENDIX C

General health questionnaire

แบบสอบถามประวัติสุขภาพทั่วไป

1. ข้อมูลสุขภาพทั่วไป
 นามสกุล..... อายุ..... ปี
 เพศ หญิง ชาย เชื้อชาติ..... สัญชาติ..... ศาสนา.....
 อาชีพปัจจุบันเป็นประจำ.....
 ท่านมีอาการอาเจียนหรือไม่ ไม่ มี ไม่แน่..... อาการ.....
 ท่านเคยเข้ารับการผ่าตัดหรือไม่ ไม่ เคย มีชื่อ..... เมื่อวันที่.....
 6 เดือนที่ผ่านมา ท่านเคยเข้ารับการรักษากับโรคทางอายุหรือไม่ ไม่ เคย เนื่องจาก.....
 เมื่อวันที่.....
 1 สัปดาห์ที่ผ่านมา ท่านมีความเจ็บป่วยหรือไม่ ไม่ มี เป็น..... เมื่อวันที่.....
 ท่านมีประวัติการตรวจคัดกรองมะเร็งต่อมลูกหมากหรือไม่ ไม่ มี โดยเป็น โรคโลหิตจาง โรคหัวใจขาดเลือด
 เบาหวาน ความดัน ไขมันสูง มะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคไต อื่นๆ.....
 ระยะเวลาที่สูบบุหรี่ ไม่สูบบุหรี่ นานกลาง นาน

2. พฤติกรรมการบริโภค

2.1 ท่านรับประทานอาหารวันละ <input type="radio"/> 1 มื้อ <input type="radio"/> 2 มื้อ <input type="radio"/> 3 มื้อ <input type="radio"/> 4 มื้อ
2.2 อาหารรสเค็มหรือรสกับประทานอาหารครบทั้ง 5 หมู่หรือไม่ <input type="radio"/> ไม่ครบ <input type="radio"/> ครบ
2.3 หากท่านรับประทานอาหารไม่ครบ 5 หมู่ อาหารหมู่ที่ท่านรับประทานเป็นส่วนใหญ่คือ <input type="radio"/> ข้าวมันไก่ทอด <input type="radio"/> ปลาปิ้ง <input type="radio"/> ไก่ปิ้ง <input type="radio"/> ไข่ต้ม <input type="radio"/> เนื้อสัตว์
2.4 ท่านดื่มเครื่องดื่มใดต่อไปนี้ในชีวิตประจำวัน (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ) <input type="radio"/> กาแฟ..... แก้วต่อวัน <input type="radio"/> น้ำอัดลม..... ขวดต่อวัน <input type="radio"/> ชาดำ..... แก้วต่อวัน <input type="radio"/> อื่นๆ..... แก้วต่อวัน
2.5 ท่านสูบบุหรี่หรือไม่ <input type="radio"/> ไม่สูบ <input type="radio"/> สูบมานาน..... ปีมาแล้ว..... มวนวัน

3. พฤติกรรมการออกกำลังกาย

3.1 ท่านได้ออกกำลังกายหรือเล่นกีฬาทุกวันใน 1 สัปดาห์ <input type="checkbox"/> 1) 1-2 วัน <input type="checkbox"/> 2) 3-4 วัน <input type="checkbox"/> 3) 5-6 วัน <input type="checkbox"/> 4) 7 วัน <input type="checkbox"/> 4) ไม่เคยออกกำลังกายหรือเล่นกีฬา เนื่องจาก..... (หากท่าน ตอบข้อนี้ กรุณาข้ามไปข้อที่ 4.1 ต่อไป)
3.2 ท่านออกกำลังกายนานเท่าไร ในแต่ละครั้ง <input type="checkbox"/> 1) น้อยกว่า 15 นาที <input type="checkbox"/> 2) 15 นาที <input type="checkbox"/> 3) 30 นาที <input type="checkbox"/> 4) 45 นาที <input type="checkbox"/> 4) 1 ชั่วโมง <input type="checkbox"/> 5) มากกว่า 1 ชั่วโมง
3.3 ท่านออกกำลังกายครั้งต่อสัปดาห์ <input type="checkbox"/> 1) 1-2 ครั้ง <input type="checkbox"/> 2) 3-4 ครั้ง <input type="checkbox"/> 3) 5-6 ครั้ง <input type="checkbox"/> 4) 7 ครั้ง
3.4 ช่วงเวลาที่ท่านออกกำลังกายเป็นประจำ คือ <input type="checkbox"/> 1) 06:00-08:00 น. <input type="checkbox"/> 2) 08:00-10:00 น. <input type="checkbox"/> 3) 10:00-12:00 น. <input type="checkbox"/> 4) 12:00-13:00 น. <input type="checkbox"/> 5) 13:00-15:00 น. <input type="checkbox"/> 6) 15:00-17:00 น. <input type="checkbox"/> 7) 17:00-19:00 น. <input type="checkbox"/> 8) 19:00-21:00 น. <input type="checkbox"/> 9) อื่นๆ.....
3.5 ในการออกกำลังกายแต่ละครั้ง ท่านออกกำลังกายจนกระทั่งรู้สึกว่ามีอาการต่อไปนี้ <input type="checkbox"/> 1) ไม่รู้สึกแตกต่างจากปกติ <input type="checkbox"/> 2) หายใจหอบ <input type="checkbox"/> 3) หัวใจเต้นแรงและเร็วขึ้นเล็กน้อย <input type="checkbox"/> 4) เหนื่อยพอสมควร มีจุดจุดขณะออกกำลังกาย <input type="checkbox"/> 5) เหนื่อยมาก จนไม่สามารถพูดคุยขณะออกกำลังกายได้
3.6 กิจกรรมการออกกำลังกายที่ท่านปฏิบัติ (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ) <input type="checkbox"/> 1) เล่นฟุตบอล <input type="checkbox"/> 2) เล่นเทนนิส <input type="checkbox"/> 3) เล่นแบดมินตัน <input type="checkbox"/> 4) เล่นยิม



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
 Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
 IRB No. 182 55
 24 ก.ค. 2555

<input type="checkbox"/> 5) ส่วนเบรคมือ	<input type="checkbox"/> 6) ส่วนปีงอ	<input type="checkbox"/> 7) สวิตช์เปิดกันดั้ม	<input type="checkbox"/> 8) เบาะรถไถ
<input type="checkbox"/> 9) ฝาถังน้ำ	<input type="checkbox"/> 10) เบาะรถ	<input type="checkbox"/> 11) ประตูรถ	<input type="checkbox"/> 12) โคมไฟ
<input type="checkbox"/> 13) กระจก	<input type="checkbox"/> 14) ยันข้างรถ	<input type="checkbox"/> 15) อื่นๆ.....	

3.7 เหตุผลที่ทำให้อุปกรณ์ดังกล่าว (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

<input type="checkbox"/> 1) เพื่อความปลอดภัย	<input type="checkbox"/> 2) เพื่อความสะดวกสบาย	<input type="checkbox"/> 3) เพื่อการป้องกัน
<input type="checkbox"/> 4) เพื่อเข้ากันได้กับผู้อื่น	<input type="checkbox"/> 5) ตามขั้นตอนวิธีมาตรฐาน	<input type="checkbox"/> 6) เป็นกิจกรรมของสถาบันชุมชน
<input type="checkbox"/> 7) เพื่อเสริมสร้างสมรรถภาพ	<input type="checkbox"/> 8) เพื่อมีความปลอดภัยของร่างกาย เช่น ยัน	
<input type="checkbox"/> 9) ส่วนเบรคจากภายนอก	<input type="checkbox"/> 10) อื่นๆ.....	

3.8 สถานที่ที่อุปกรณ์ดังกล่าวหรือส่วนที่จำเป็นประจำตัวเสนอ ได้แก่ (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

<input type="checkbox"/> 1) บริเวณบ้านใกล้บ้าน	<input type="checkbox"/> 2) สนามกีฬาของสถาบัน	<input type="checkbox"/> 3) สนามกีฬา
<input type="checkbox"/> 4) ถนนที่ว่างสาธารณะ	<input type="checkbox"/> 5) สนามกีฬาในหมู่บ้านจัดสรร	<input type="checkbox"/> 6) สนามกีฬาของราชการ
<input type="checkbox"/> 7) สนามกีฬาของราชการ	<input type="checkbox"/> 8) ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพของเอกชน	<input type="checkbox"/> 9) สนามสาธารณะสวนสุขภาพ
<input type="checkbox"/> 10) อื่นๆ.....		

3.9 เหตุผลในการเลือกสถานที่ดังกล่าว (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

<input type="checkbox"/> 1) สะดวกในการเดินทาง	<input type="checkbox"/> 2) สะอาด/สวยงาม	<input type="checkbox"/> 3) ปลอดภัย	<input type="checkbox"/> 4) ประชาชน
<input type="checkbox"/> 5) มีผู้ใช้อุปกรณ์กีฬา	<input type="checkbox"/> 6) มีกิจกรรมให้เล่นหลากหลาย	<input type="checkbox"/> 7) เป็นสมาชิก	
<input type="checkbox"/> 8) อื่นๆ.....			

4. การศึกษารายละเอียด

4.1 จำนวนของตัวรับและ ชั่วโมง

4.2 กิจกรรมระหว่างที่ขอทำในแต่ละวัน (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

อ่านหนังสือ..... ชม. ดูทีวี..... ชม. ฟังเพลง..... ชม. เล่นอินเตอร์เน็ต..... ชม.

คุยกับเพื่อน..... ชม. เล่นดนตรี..... ชม. เล่นกีฬา..... ชม. เล่นเกม..... ชม.

อื่นๆ.....




INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
 Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
 IRB No. 182 / 55
 Date of Approval 24 ก.ค. 2555

APPENDIX D

Information sheet for research participants

APPENDIX D

Information sheet for research participants

 <p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)
--	--

ชื่อโครงการวิจัย...การเปรียบเทียบผลของการฝึกแอโรบิกแบบต่อเนื่องและการฝึกแอโรบิกแบบสลับช่วงที่มีต่อการควบคุมระดับน้ำตาลและการขยายหลอดเลือดผ่านการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 (A COMPARISON BETWEEN THE EFFECTS OF CONTINUOUS AND INTERVAL AEROBIC TRAINING ON GLYCEMIC CONTROL AND ENDOTHELIAL DEPENDENT VASODILATATION IN TYPE 2 DIABETES PATIENTS)

ผู้สนับสนุนการวิจัย -

ผู้ทำวิจัย

ชื่อ ...รองศาสตราจารย์ ดร.ดร.ฉวีวรรณ สุขสม.

สถานที่ติดต่อ ...คณะวิทยาศาสตร์การกีฬา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถ.พระราม 1 ปทุมวัน กทม. 10330

เบอร์โทรศัพท์ ...02-218-1002, 081-341-5736

(ที่ทำงานและมือถือ)

แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อ ...ศาสตราจารย์คลินิกพิเศษ นพ.ชัยชาญ ติโรจนวงศ์

ที่อยู่ ... 698-702 ถนนเจริญกรุง เขตสัมพันธวงศ์ กรุงเทพฯ 10100

เบอร์โทรศัพท์ ...022212046, 0814905037

(ที่ทำงานและมือถือ)

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 ก่อนที่
ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษานี้ขอให้อ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบ
ถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษานี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงาน
ของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของ
ท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่า จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้
ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

Version 2.0 Dated 17 July 2012

1/10



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 482 / 55
Date of Approval 24 ก.ค. 2555



คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารข้อมูลก่อนวิจัยสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย
(Information sheet for research participant)

บทคัดย่อความเป็นมา

โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes) เป็นชนิดของเบาหวานที่พบได้มากกว่าเบาหวานประเภทอื่นๆ เบาหวานชนิดนี้เกิดจากภาวะดื้ออินซูลิน (Insulin resistance) กล่าวคือเนื้อเยื่อไม่ตอบสนองต่ออินซูลินตามปกติ ผลคือร่างกายให้น้ำตาลในเลือดสูง

ภาวะน้ำหนักเกินหรืออ้วนเป็นสาเหตุของภาวะดื้ออินซูลินหรือภาวะเป็นเหตุให้เกิดการสูญเสียหน้าที่ของเซลล์เบต้าของตับอ่อน (Endothelial dysfunction) ซึ่งทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคหลอดเลือดสมอง โรคไต โรคหลอดเลือดส่วนปลาย รวมทั้งมีผลต่อการหายของบาดแผลในผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรคเบาหวานชนิดที่ 2 มักพบในกลุ่มคนที่มีน้ำหนักเกินมาตรฐาน (Overweight) ซึ่งมักมีระดับไขมันในเลือด ไขมันที่คอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์สูง อาจกล่าวได้ว่า ภาวะน้ำหนักเกินเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยทั่วไปการดูแลสุขภาพผู้ที่เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 นั้นควรเน้นให้มีการควบคุมอาหาร โดยเฉพาะอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตและไขมัน การให้ยาจำพวกเมทฟอร์มิน (Metformin) และการแนะนำให้ออกกำลังกาย

สำหรับการออกกำลังกายถึงกว่าวันงานวิจัยจำนวนมากได้ให้ความสนใจในการออกกำลังกายแอโรบิกในการฟื้นฟูอาการผู้ป่วยเบาหวาน ได้แก่ การลดภาวะอ้วนลงพุง ไขมันในเส้นเลือด ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และฟื้นฟูหน้าที่การทำงานของเซลล์เบต้าของตับอ่อน ผลของการศึกษาในระยะเวลาสั้นๆ เริ่มนำการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงมาใช้ในกลุ่มผู้ที่มีสมรรถภาพร่างกายต่ำ หรือผู้ที่ย่อยแอ โดยการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงมีผลคือการเป็นการออกกำลังกายที่มีผลการออกกำลังกายที่ความหนักระดับสูง (ทำได้ตั้งแต่ 15 วินาทีถึง 4 นาที) สลับกับช่วงความหนักในระดับต่ำถึงปานกลาง โดยสลับกันไปเรื่อยๆ มีรายงานว่า การออกกำลังกายแอโรบิกที่ระดับความหนักสูงจะมีผลต่อการพัฒนาสมรรถภาพด้านหัวใจและหลอดเลือดได้มากกว่าความหนักของการออกกำลังกายระดับต่ำหรือปานกลาง แต่เนื่องจากผู้ที่ย่อยแอซึ่งต้องการเสริมสร้างสมรรถภาพด้านหัวใจและหลอดเลือดอย่างมาก เช่น ผู้สูงอายุหรือผู้ป่วยโรคเรื้อรังนั้นอาจไม่สามารถออกกำลังกายที่ความหนักระดับสูงได้อย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการออกกำลังกายแอโรบิกแบบหนักสลับเบาที่มีความหนักของการออกกำลังกายระดับสูงเป็นช่วงระยะเวลาสั้นๆ สลับกับความหนักของการออกกำลังกายระดับปานกลางน่าจะเป็นรูปแบบของการออกกำลังกายที่สูงอายุหรือผู้ที่มีโรคเรื้อรัง เช่น ผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 สามารถปฏิบัติได้มากกว่า โดยมีรายงานว่า การออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงมีประสิทธิภาพในการพัฒนาสมรรถภาพด้านหัวใจและหลอดเลือดได้มากกว่าการออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่อง ส่วนในด้านกลไกทาง

Version 2.0 Dated 17 July 2012

2/10



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 182 / 55
Date of Approval 24 ก.ค. 2555



คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย
(Information sheet for research participant)

โมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับการนำน้ำเข้าสู่เซลล์ และการฟื้นฟูหน้าที่การทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

ผู้วิจัยซึ่งสนใจที่จะศึกษาผลของสารออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 ว่ามีผลอย่างไรต่อการควบคุมระดับน้ำตาล และหน้าที่การทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือด โดยทำการศึกษาในผู้ป่วยที่มีระดับไขมันแรงของสารเชิงไขมันหวานระดับปานกลางจากการวัดค่าไกลโคซิเลทอีโมโกลบิน (HbA1c) โดยผู้วิจัยจะทำการศึกษาเปรียบเทียบกับการออกกำลังกายที่เป็นการเดินที่นุ่มนวลของผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 คือการออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่องว่าจะให้ผลแตกต่างกับการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงหรือไม่อย่างไร โดยความรู้ที่เกิดจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะเป็นแนวทางในการดูแลรักษาสุขภาพของผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 ทั้งในเรื่องการควบคุมสภาวะการเจ็บของโรค และการลดลงของภาวะแทรกซ้อนอื่นเนื่องมาจากหน้าที่การทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดที่ดีขึ้น โดยเสนอแนะการออกกำลังกายที่เหมาะสมซึ่งจะทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นและเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการรักษาทั้งของตนเองและประเทศชาติ

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์หลักในการศึกษาครั้งนี้ คือ เพื่อเปรียบเทียบผลของการฝึกแอโรบิกแบบต่อเนื่อง และแอโรบิกแบบสลับช่วงที่มีต่อการควบคุมระดับน้ำตาล และการขยายหลอดเลือดผ่านการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอข้อมูลจากหน่วยเวชระเบียนในเรื่องการควบคุมระดับน้ำตาลของท่านว่าค่าไกลโคซิเลทอีโมโกลบินอยู่ในช่วง 7.1-9 เปอร์เซ็นต์ หรือไม่ เพื่อคัดกรองท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

หากท่านมีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเลือก ท่านจะได้รับเชิญให้มาพบตามวันเวลาที่ผู้วิจัยนัดหมาย คือ วันเวลาที่ท่านสะดวกเพื่อทำการทดสอบ โดยท่านต้องอดอาหารก่อนมาทดสอบและพักผ่อนให้เพียงพออย่างน้อย 8 ชั่วโมง และสวมชุดออกกำลังกายและรองเท้าออกกำลังกายโดยปฏิบัติตามดังนี้



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 142 / 59
Date of Approval 24 ก.ค. 2555



คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

(Information sheet for research participant)


1. การทดสอบด้านสารชีวเคมีในเลือด โดยเจาะเลือดครั้งละ 15 ซีซี (ประมาณ 3 ช้อนชา) โดยนักเทคนิคการแพทย์ จากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตัวอย่างเลือดที่จะนำไปวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือด ได้แก่ กลูโคส ทรอปเลสเตอรอล ไคโรลีนีเซอไรด์ ไคเลนิคิตีไลโปโปรตีน ไคเลนิคิตีไลโปโปรตีน ไคเลนิคิตีไมโทกลินีน อินซูลิน วอนวิลลิเบินด์เฟลเคอร์ มาลอนไดอัลดีไฮด์ และกลูต้าไทโอนเพอรอกซิเดส เจาะเลือดในช่วงเวลา 7.00 น. โดยทำการเจาะเลือด 2 ครั้ง คือ ช่วงก่อนการทดลอง และช่วงหลังการทดลอง (ระยะเวลาประมาณ 3 เดือน หลังจากการเจาะเลือดครั้งแรก) เมื่อทำการเจาะเลือดเสร็จแล้วท่านจะได้พักรับประทานอาหารเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการทดสอบในขั้นตอนต่อไป

2. ผู้วิจัยจะนัดท่านอีกครั้งในวันเดียวกันคือช่วงเวลา 9.30 น. เพื่อทดสอบหาตัวแปรทางสรีรวิทยา ได้แก่ น้ำหนักและส่วนสูง อัตราการเต้นหัวใจ ในขณะที่พัก ความดันโลหิต โดยวัดค่าความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัวและความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัว ในทำนองขณะที่ทำการทดสอบการไหลของเลือดชั้นผิวหนังโดยวิธีไอออนโตโฟรีซิส (Iontophoresis) การจัดการทำงานของหลอดเลือดโดยใช้อุปกรณ์อัลตราซาวด์ (Ultrasound) และการทดสอบสูงสมรรถนะ (สมรรถภาพทางกายที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพ) ได้แก่ องค์ประกอบของร่างกาย ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ ความอ่อนตัว ความอดทนของระบบหัวใจและการหายใจ โดยการตรวจทั้งหมดจะเสร็จสิ้นในช่วงเวลาประมาณ 12.30 น.

โดยตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัยคือ 14 สัปดาห์ และมาพบผู้วิจัยหรือผู้ร่วมทำวิจัยทั้งสิ้น 2 ครั้ง สำหรับผู้ที่อยู่ในกลุ่มที่ได้วันกรออกกำลังกาย มาพบผู้วิจัยหรือผู้ร่วมทำวิจัยเพื่อฝึกออกกำลังกายทั้งสิ้น 38 ครั้ง และผู้วิจัยจะทำลายเลือดทั้งหมดหลังจากเสร็จสิ้นโครงการวิจัย



<p>INSTITUTIONAL REVIEW BOARD</p> <p>Faculty of Medicine, Chulalongkorn University</p> <p>IRB No. 182 / 55</p> <p>Date of Approval 24 ก.ค. 2555</p>

 <p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)</p>
--	--

ตารางสรุประยะเวลาการเข้าร่วมโครงการวิจัย

กลุ่ม	ระยะเวลาในการเข้าร่วมการวิจัย	จำนวนครั้งที่มาพบผู้วิจัย
กลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับโปรแกรมการออกกำลังกาย)	14 สัปดาห์	2 ครั้ง คือ เฉพาะสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 14
กลุ่มออกกำลังกายแบบแอโรบิกแบบต่อเนื่อง	14 สัปดาห์	38 ครั้ง คือ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 14
กลุ่มออกกำลังกายแบบแอโรบิกแบบสลับช่วง	14 สัปดาห์	38 ครั้ง คือ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 14

ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้วิจัยขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้วิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

เพื่อความปลอดภัย ท่านไม่ควรใช้วิคซีน หรือรับประทานยาอื่น จากการจ่ายยาโดยแพทย์อื่นหรือซื้อยาจากร้านขายยา ขอให้ท่านปรึกษาผู้วิจัย ทั้งนี้เนื่องจากวิคซีน หรือยาดังกล่าวอาจมีผลต่อการออกกำลังกายที่ท่านได้รับจากผู้วิจัย ดังนั้นขอให้ท่านแจ้งผู้วิจัยเกี่ยวกับยาที่ท่านได้รับ ในระหว่างที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย

ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

การทดสอบตัวแปรด้านสุขสมรรถนะและการออกกำลังกายอาจรู้สึกเมื่อยล้า หายใจไม่สะดวกขณะเดินบนสายพาน แต่อาการดังกล่าวจะหายเป็นปกติในเวลาอันสั้น และอาจทำให้มีอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อได้ ทั้งนี้ก่อนและหลังการทดสอบและการออกกำลังกายทุกครั้ง จะมีการให้อุ่นอุ่นร่างกายและผ่อนคลายกล้ามเนื้อเพื่อป้องกันการปวดเมื่อยดังกล่าว รวมถึงภาวะที่เกี่ยวข้องกับการออกกำลังกายซึ่งอันเกิดขาดโรคเบาหวานที่อาจเกิดขึ้นได้ ในขณะที่การทดสอบร่างกายและออกกำลังกาย ผู้วิจัยและผู้ช่วยวิจัยจะตรวจวัดอัตราการเต้นของหัวใจและความดันโลหิตของท่านและออกกำลังกายอย่างใกล้ชิด หากพบความผิดปกติทางร่างกายที่เกิดขึ้น เช่น

Version 2.0 Dated 17 July 2012

5/10



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD	
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University	
IRB No. 182	55
Date of Approval	24 ก.ค. 2555



คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย
(Information sheet for research participant)

อาการวิงเวียนศีรษะหน้ามืด ความผิดปกติของอัตราการเต้นหัวใจและความดันโลหิต หรืออาการอื่นนำไปสู่
อันตรายต่อร่างกาย ผู้วิจัยและผู้ช่วยวิจัยจะให้ผู้เข้าร่วมวิจัยหยุดไปรบกวนการทดลองชั่วคราว หากการปฐมพยาบาล
เบื้องต้น และส่งต่อไปยังแพทย์ ผู้วิจัยจะรับผิดชอบในการส่งต่อ ๓ สถานพยาบาลและค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นจากการ
ดูแลรักษา และหากกลุ่มตัวอย่างได้รับความผิดปกติเนื่องจากการเข้าร่วมการวิจัย และแพทย์ผู้เชี่ยวชาญพิสูจน์ได้
ว่าเป็นผลจากการเข้าร่วมวิจัย กลุ่มตัวอย่างจะได้รับการคุ้มครองตามกฎหมาย และมีการรักษาจนกว่าจะหาย
โดยผู้วิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่ายทั้งหมด

..... ในกรณีที่พบอาการดังกล่าวข้างต้น หรืออาการอื่น ๆ ที่พบร่วมด้วย ระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย หรือ
หากมีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ขอให้ท่านรายงานให้ผู้ทำวิจัยทราบโดยเร็ว

ความเสี่ยงที่ีได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ร้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือ
หน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

ความเสี่ยงที่ีได้รับจากการทำไอออนโตไฟรีซิส (Iontophoresis)

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการระคายเคืองผิวหนังจากการสัมผัสสารละลายเกลือ
(โซเดียมในโคโรลัสโซล) บนผิวหนังบริเวณที่แอมแปนของก่อนบนผิวหนัง ซึ่งกรณีดังกล่าวจะพบได้น้อยมาก

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการ
ข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิด
ความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถ
สอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมใน
โครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอ
ถอนตัวออกจากโครงการวิจัย



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 182 / 57
24 ก.ค. 2555



คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย
(Information sheet for research participant)

การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะ ไม่เสียค่าใช้จ่าย

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

การเข้าร่วมใน โครงการวิจัยนี้อาจจะทำให้ท่านมีสุขภาพที่ดีขึ้น หรืออาจจะลดความรุนแรงของโรคได้ แต่ไม่ได้รับรองว่าสุขภาพของท่านจะดีขึ้นหรือความรุนแรงของโรคจะลดลงอย่างแน่นอน

วิธีการและรูปแบบการรักษาอื่น ๆ ซึ่งอยู่สำหรับอาสาสมัคร

ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วม โครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษา โรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาอื่น ๆ หลายแบบสำหรับรักษาโรคของท่านได้ ดังนั้นจึงควรปรึกษานวทางการแพทย์รักษาวิธีอื่นๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความซื่อสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความคิดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการ ใช้อาหารอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจัยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านนำยาที่ใช้ในการศึกษาของท่านทั้งหมดที่เหลือจากการรับประทานมาให้ผู้ทำวิจัยทุกครั้ง ที่นัดหมายให้มาพบ



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD	
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University	
IRB No.	482 / 55
Date of Approval	24 ก.ค. 2555



คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย
(Information sheet for research participant)

อันตรายที่คาดไม่ถึงจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที หากพิสูจน์ได้ว่าท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมนักวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้ละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ รองศาสตราจารย์ ดร.คุณวราณ สุพสม เบอร์โทรศัพท์ 081-341-5736 และศาสตราจารย์คลินิกพิเศษ นพ.วิชัยวุฒิ โสโรจนวงศ์ เบอร์โทรศัพท์ 081-490-5037 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ และ ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด รวมทั้งค่าเดินทางตามความดีที่ท่านได้มาพบแพทย์

ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย

ท่านจะได้รับค่าเดินทางและเงินชดเชยการสูญเสียรายได้ หรือความไม่สะดวก ไม่สบาย ไม่กรมาพบผู้วิจัย ค่าเดินทางในการมาทดสอบสมรรถภาพครั้งละ 200 บาทรวมทั้งหมด 2 ครั้ง และค่าตอบแทนคนละ 1,000 บาท สำหรับกลุ่มฝึกยกน้ำหนักทั้งสองกลุ่มจะได้รับค่าเดินทางเพิ่มเติมสำหรับกรรมการฝึกทุกครั้ง ครั้งละ 100 บาท รวมทั้งหมด 300 ครั้ง

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอลงตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยขออนท่านออกจากกรเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ โครงการนี้ดังต่อไปนี้

Version 2.0 Dated 17 July 2012



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 122 / 55
Date of Approval 24 ก.ค. 2555



คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย
(Information sheet for research participant)

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครรภ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย
- ท่านเกิดอาการข้างเคียง หรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่ท่านนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่าน ได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ นายวิฑิต มิตราพันธ์ 56 ลาดพร้าว 83 แขวงวังทองหลาง เขตวังทองหลาง กทม. 10310

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถขอรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD	
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University	
IRB No. 122	35
Date of Approval	24 ก.ค. 2555



คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย
(Information sheet for research participant)

สิทธิของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของโครงการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลคือท่านรวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสาร ใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับ ข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดิฉันนันทมหิตลชนัน 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ


ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 182 / 55
Date of Approval 24 ก.ค. 2555

APPENDIX E
Informed consent form

APPENDIX E
Informed consent form

 <p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย
--	--

การวิจัยเรื่อง...การเปรียบเทียบผลของการฝึก แอโรบิกแบบต่อเนื่องและการฝึกแอโรบิกแบบสลับช่วงที่มีต่อการควบคุมระดับน้ำตาลและการขยายหลอดเลือดผ่านการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 (A COMPARISON BETWEEN THE EFFECTS OF CONTINUOUS AND INTERVAL AEROBIC TRAINING ON GLYCEMIC CONTROL AND ENDOTHELIAL DEPENDENT VASODILATATION IN TYPE 2 DIABETES PATIENTS)

วันที่ทำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว..... ที่อยู่..... ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และ วันที่พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตรายหรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัยจากการออกกำลังกาย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางการรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจ ไม่ปิดบังซ่อนเร้นของข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ผู้วิจัยจะเป็นผู้ดูแลรับผิดชอบให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยตั้งแต่ ความช่วยเหลือเบื้องต้น เช่น ให้หยุดพักเพื่อสังเกตอาการ หรือปฐมพยาบาลเบื้องต้น และจะนำส่งโรงพยาบาล โดยผู้วิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่ายดังกล่าวทั้งหมด


ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทยุติสนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคนอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

Version 2.0 Dated 16 July 2012



INSTITUTIONAL REVIEW BOARD Faculty of Medicine, Chulalongkorn University IRB No. 182 / 55 Date of Approval 24 ก.ค. 2555
--

 <p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย</p>
--	---

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ ของผู้ให้เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบการวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคต

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม
(.....) ชื่อผู้ยินยอมด้วยบรรจง
วันที่เดือน..... พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อ่านถึงวัตถุประสงค์ของกรวิจัย วิจัยการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากการออกกำลังกาย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย
(.....รศ.ดร. ครุณวรรณ สุขสม.....) ชื่อผู้ทำวิจัยหลัก ด้วยบรรจง
วันที่เดือน..... พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน
(.....) ชื่อพยาน ด้วยบรรจง
วันที่เดือน..... พ.ศ.....

Version 2.0 Dated 16 July 2012



<p>INSTITUTIONAL REVIEW BOARD Faculty of Medicine, Chulalongkorn University IRB No. 182 / 55 24 ก.ค. 2555</p>

APPENDIX F

The component of aerobic exercise assessment forms

APPENDIX F

The component of aerobic exercise assessment forms

แบบประเมินความเหมาะสมด้านองค์ประกอบ

ของโปรแกรมการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงสำหรับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2

แบบประเมินนี้ สำหรับผู้เชี่ยวชาญเพื่อประเมินความเหมาะสมด้านองค์ประกอบของโปรแกรมการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงสำหรับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 ที่ผู้วิจัยสร้างขึ้น

คำชี้แจง เมื่อท่านตรวจดูโปรแกรมการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงชุดนี้แล้ว โปรดพิจารณาว่าองค์ประกอบแต่ละด้านมีความเหมาะสมอยู่ในระดับใด โดยทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องตัวเลขที่ตรงกับความคิดเห็นของท่านมากที่สุด

-1 หมายถึง ไม่เห็นด้วย 0 หมายถึง ไม่แน่ใจ +1 หมายถึง เห็นด้วย

ข้อที่	องค์ประกอบการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วง	ระดับความคิดเห็น		
		-1	0	+1
1.	ท่าทางการออกกำลังกาย 1.1 ท่าทางการออกกำลังกายทำได้ง่าย 1.2 ท่าทางการออกกำลังกายน่าสนใจ 1.3 ท่าการออกกำลังกายประกอบด้วยท่าเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ๆ ในร่างกาย 1.4 การเรียงลำดับความหนักการออกกำลังกายจากระดับเบาถึงระดับปานกลางมีความต่อเนื่องและสัมพันธ์กัน 1.5 ท่าการออกกำลังกายมีความเหมาะสมกับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 และมีความเสี่ยงน้อยต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนหรือการบาดเจ็บ			
2.	ขั้นตอนการออกกำลังกาย ช่วงอบอุ่นร่างกาย 2.1 มีการเตรียมความพร้อมของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ทำได้ดี 2.2 การยืดเหยียดกล้ามเนื้อและข้อต่อทำได้ครบทุกส่วน			

ข้อที่	องค์ประกอบการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วง	ระดับความคิดเห็น		
		-1	0	+1
2.	<p>ขั้นตอนการออกกำลังกาย (ต่อ)</p> <p>ช่วงอบอุ่นร่างกาย</p> <p>2.3 การอบอุ่นร่างกายมีการจัดเรียงท่าได้ต่อเนื่อง</p> <p>2.4 ระยะเวลาการอบอุ่นร่างกาย 5-10 นาที มีความเหมาะสม</p> <p>ช่วงออกกำลังกาย</p> <p>2.5 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะเวลาที่ 1 มีความเหมาะสม</p> <p>2.6 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะเวลาที่ 2 มีความเหมาะสม</p> <p>2.7 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะเวลาที่ 3 มีความเหมาะสม</p> <p>2.8 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะเวลาที่ 1 มีความเหมาะสม</p> <p>2.9 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะเวลาที่ 2 มีความเหมาะสม</p> <p>2.10 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะเวลาที่ 3 มีความเหมาะสม</p> <p>2.11 การออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงมีความเหมาะสมกับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2</p> <p>ช่วงผ่อนคลาย</p> <p>2.12 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อทำได้ดี</p> <p>2.13 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อทำได้ทุกส่วน</p> <p>2.14 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อเรียงลำดับของท่าได้ต่อเนื่องกัน</p>			

ข้อที่	องค์ประกอบการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วง	ระดับความคิดเห็น		
		-1	0	+1
	<i>ช่วงผ่อนคลาย</i>			
	2.15 ระยะเวลาการผ่อนคลาย 5-10 นาที มีความเหมาะสม			
3.	อุปกรณ์ “ลู่วิ่ง” 3.1 สามารถใช้ในการออกกำลังกายได้ง่าย 3.2 เกิดความเสี่ยงน้อยต่อการบาดเจ็บในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2			

ความคิดเห็นและข้อเสนอแนะของผู้ทรงคุณวุฒิ

.....

.....

.....

.....

ลงชื่อ.....

(.....)

ผู้ทรงคุณวุฒิ

การวิเคราะห์ความตรงเชิงเนื้อหาจากการให้คะแนนของผู้ทรงคุณวุฒิเกี่ยวกับ
แบบสอบถามความเหมาะสมด้านองค์ประกอบของการฝึกออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับ
ช่วง

เนื้อหา	ระดับความคิดเห็น			ค่า IOC
	เห็น ด้วย 1	ไม่ แน่ใจ 0	ไม่เห็น ด้วย -1	
1.1 ทำทางการออกกำลังกายทำได้ง่าย	4	1	0	0.80
1.2 ทำทางการออกกำลังกายน่าสนใจ	4	1	0	0.80
1.3 ทำการออกกำลังกายประกอบด้วยการเคลื่อนไหวของ กล้ามเนื้อมัดใหญ่ๆในร่างกาย	5	0	0	1
1.4 การเรียงลำดับความหนักการออกกำลังกายจากระดับ เบาถึงระดับปานกลางมีความต่อเนื่องและสัมพันธ์กัน	4	1	0	0.80
2.1 มีการเตรียมความพร้อมของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ทำได้ เป็นอย่างดี	4	1	0	0.80
2.2 การยืดเหยียดกล้ามเนื้อและข้อต่อทำได้ครบทุกส่วน	5	0	0	1
2.3 การอบอุ่นร่างกายมีการจัดเรียงทำได้ต่อเนื่อง	5	0	0	1
2.4 ระยะเวลาการอบอุ่นร่างกาย 5-10 นาที มีความ เหมาะสม	5	0	0	1
2.5 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะที่ 1 มีความ เหมาะสม	4	1	0	0.80
2.6 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะที่ 2 มีความ เหมาะสม	4	1	0	0.80
2.7 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะที่ 3 มีความ เหมาะสม	4	1	0	0.80
2.8 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะที่ 1 มีความเหมาะสม	4	1	0	0.60
2.9 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะที่ 2 มีความเหมาะสม	4	1	0	0.60
2.10 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะที่ 3 มีความ เหมาะสม	4	1	0	0.60

เนื้อหา	ระดับความคิดเห็น			ค่า IOC
	เห็นด้วย 1	ไม่แน่ใจ 0	ไม่เห็นด้วย -1	
2.11 การออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงที่มีความเหมาะสมกับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2	4	1	0	0.80
2.12 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อมัดใหญ่ทำได้ดี	4	1	0	1
2.13 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อทำได้ทุกส่วน	4	1	0	0.80
2.14 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อเรียงลำดับของทำได้ต่อเนื่องกัน	4	1	0	0.80
2.15 ระยะเวลาการผ่อนคลาย 5-10 นาที มีความเหมาะสม	4	1	0	0.80
3.1 สามารถใช้ในการออกกำลังกายได้ง่าย	4	1	0	0.80
3.2 เกิดความเสี่ยงน้อยต่อการบาดเจ็บในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2	4	1	0	0.80

แบบประเมินความเหมาะสมด้านองค์ประกอบ

ของโปรแกรมการออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่องสำหรับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2

แบบประเมินนี้ สำหรับผู้เชี่ยวชาญเพื่อประเมินความเหมาะสมด้านองค์ประกอบของโปรแกรมการออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่องสำหรับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 ที่ผู้วิจัยสร้างขึ้น

คำชี้แจง เมื่อท่านตรวจดูโปรแกรมการออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงชุดนี้แล้ว โปรดพิจารณาว่าองค์ประกอบแต่ละด้านมีความเหมาะสมอยู่ในระดับใด โดยทำเครื่องหมาย ✓ ลงในช่องตัวเลขที่ตรงกับความคิดเห็นของท่านมากที่สุด

-1 หมายถึง ไม่เห็นด้วย

0 หมายถึง ไม่แน่ใจ

+1 หมายถึง เห็นด้วย

ข้อที่	องค์ประกอบการออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่อง	ระดับความคิดเห็น		
		-1	0	+1
1.	ท่าทางการออกกำลังกาย 1.1 ท่าทางการออกกำลังกายทำได้ง่าย 1.2 ท่าทางการออกกำลังกายน่าสนใจ 1.3 ท่าการออกกำลังกายประกอบด้วย การเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ๆ ในร่างกาย 1.4 การเรียงลำดับความหนักการออกกำลังกายจากระดับเบาถึงระดับปานกลางมีความต่อเนื่องและสัมพันธ์กัน 1.5 ท่าการออกกำลังกายมีความเหมาะสมกับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2 และมีความเสี่ยงน้อยต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนหรือการบาดเจ็บ			
2.	ขั้นตอนการออกกำลังกาย ช่วงอบอุ่นร่างกาย 2.1 มีการเตรียมความพร้อมของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ทำได้อย่างดี 2.2 การยืดเหยียดกล้ามเนื้อและข้อต่อทำได้ครบทุกส่วน			

ข้อที่	องค์ประกอบการออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่อง	ระดับความคิดเห็น		
		-1	0	+1
2.	<p>ขั้นตอนการออกกำลังกาย (ต่อ)</p> <p>ช่วงอบอุ่นร่างกาย</p> <p>2.3 การอบอุ่นร่างกายมีการจัดเรียงท่าได้ต่อเนื่อง</p> <p>2.4 ระยะเวลาการอบอุ่นร่างกาย 5-10 นาที มีความเหมาะสม</p> <p>ช่วงออกกำลังกาย</p> <p>2.5 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะที่ 1 มีความเหมาะสม</p> <p>2.6 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะที่ 2 มีความเหมาะสม</p> <p>2.7 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะที่ 3 มีความเหมาะสม</p> <p>2.8 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะที่ 1 มีความเหมาะสม</p> <p>2.9 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะที่ 2 มีความเหมาะสม</p> <p>2.10 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะที่ 3 มีความเหมาะสม</p> <p>2.11 การออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงมีความเหมาะสมกับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2</p> <p>ช่วงผ่อนคลาย</p> <p>2.12 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อทำได้ดี</p> <p>2.13 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อทำได้ทุกส่วน</p> <p>2.14 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อเรียงลำดับของท่าได้ต่อเนื่องกัน</p>			

ข้อที่	องค์ประกอบการออกกำลังกายแอโรบิกแบบต่อเนื่อง	ระดับความคิดเห็น		
		-1	0	+1
	<i>ช่วงผ่อนคลาย</i>			
	2.15 ระยะเวลาการผ่อนคลาย 5-10 นาที มีความเหมาะสม			
3.	อุปกรณ์ “ลู่วิ่ง” 3.1 สามารถใช้ในการออกกำลังกายได้ง่าย 3.2 เกิดความเสี่ยงน้อยต่อการบาดเจ็บในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2			

ความคิดเห็นและข้อเสนอแนะของผู้ทรงคุณวุฒิ

.....

.....

.....

.....

ลงชื่อ.....

(.....)

ผู้ทรงคุณวุฒิ

การวิเคราะห์ความตรงเชิงเนื้อหาจากการให้คะแนนของผู้ทรงคุณวุฒิเกี่ยวกับ
แบบสอบถามความเหมาะสมด้านองค์ประกอบของการฝึกออกกำลังกายแอโรบิกแบบ
ต่อเนื่อง

เนื้อหา	ระดับความคิดเห็น			ค่า IOC
	เห็น ด้วย 1	ไม่ แน่ใจ 0	ไม่เห็น ด้วย -1	
1.1 ทำทางการออกกำลังกายทำได้ง่าย	4	1	0	0.80
1.2 ทำทางการออกกำลังกายน่าสนใจ	4	1	0	0.80
1.3 ทำทางการออกกำลังกายประกอบด้วยการเล่นไหวของ กล้ามเนื้อมัดใหญ่ๆในร่างกาย	5	0	0	1
1.4 การเรียงลำดับความหนักการออกกำลังกายจากระดับ เบาถึงระดับปานกลางมีความต่อเนื่องและสัมพันธ์กัน	4	1	0	0.80
2.1 มีการเตรียมความพร้อมของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ทำ เป็นได้ดี	4	1	0	0.80
2.2 การยืดเหยียดกล้ามเนื้อและข้อต่อทำได้ครบทุกส่วน	5	0	0	1
2.3 การอบอุ่นร่างกายมีการจัดเรียงทำต่อเนื่อง	5	0	0	1
2.4 ระยะเวลาการอบอุ่นร่างกาย 5-10 นาที มีความ เหมาะสม	5	0	0	1
2.5 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะที่ 1 มีความ เหมาะสม	4	1	0	0.80
2.6 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะที่ 2 มีความ เหมาะสม	4	1	0	0.80
2.7 โปรแกรมการออกกำลังกายในระยะที่ 3 มีความ เหมาะสม	4	1	0	0.80
2.8 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะที่ 1 มีความเหมาะสม	4	1	0	0.60
2.9 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะที่ 2 มีความเหมาะสม	4	1	0	0.60
2.10 การคิดค่าการใช้พลังงานในระยะที่ 3 มีความ เหมาะสม	4	1	0	0.60

เนื้อหา	ระดับความคิดเห็น			ค่า IOC
	เห็นด้วย 1	ไม่แน่ใจ 0	ไม่เห็นด้วย -1	
2.11 การออกกำลังกายแอโรบิกแบบสลับช่วงมีความเหมาะสมกับผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2	4	1	0	0.80
2.12 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อทำได้ดี	4	1	0	1
2.13 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อทำได้ทุกส่วน	4	1	0	0.80
2.14 การผ่อนคลายกล้ามเนื้อเรียงลำดับของทำได้ต่อเนื่องกัน	4	1	0	0.80
2.15 ระยะเวลาการผ่อนคลาย 5-10 นาที มีความเหมาะสม	4	1	0	0.80
3.1 สามารถใช้ในการออกกำลังกายได้ง่าย	4	1	0	0.80
3.2 เกิดความเสี่ยงน้อยต่อการบาดเจ็บในผู้ป่วยเบาหวานประเภทที่ 2	4	1	0	0.80

APPENDIX G

Biological and health-related physical fitness assessment

APPENDIX G

Biological and health-related physical fitness assessment

Biological assessment

-Resting heart rate

The participants were sitting at least 5 minutes for resting period prior to the measurement. The resting heart rate was measured with heart rate monitor (Polar, Finland)

-Resting blood pressure

The participants were sitting at least 5 minutes for resting period prior to the measurement. The blood pressure was measured with digital blood pressure (Omron, Japan). The systolic blood pressure and diastolic blood pressure were recorded in unit of millimeters of mercury (mmHg).

Health-related physical fitness assessment

-Body composition



Fat mass, body fat, muscle mass and waist-to-hip ratio, was performed by using Body composition analyzer (Biospace, In body 220, Korea).

-Muscle strength

Muscle strength was performed with weight machine (Leg extension machine, Leg curl machine, Chest press machine and Lat machine, Nautilus, USA), using one repetition maximum method (1RM). Participants were familiarized with each of the resistance machines by performing 8-10 repetitions of a light load (~50% of predicted 1RM). After a 1 minute of rest, participants performed a load (~80% of estimated 1RM) through the full range of motion. After each successful performance, the weight increased until a failed attempt occurred. One minute rests were given between each attempt and the 1-RM was attained within 5 attempts and 5 minutes rest separated each test.

-Flexibility

The sit and reach test is a common measure of flexibility, and specifically measures the flexibility of the lower back and hamstring muscles. The measurement is to use the level of the feet as recording zero, so that any measure that does not reach the toes is negative and any reach past the toes is positive.

-Cardiovascular and respiratory fitness

All participants performed walking on treadmill (Landice, UK). Maximal O₂ consumption was assessed by Modified Bruce protocol in which the grade and intensity were increased every 3 minutes until exhaustion. Oxygen consumption was measured with the cardiopulmonary gas exchange system (Cortex, Metamax 3B, Germany) throughout the exercise test. Respiratory exchange ratio (RER) values 1.05 was used to determine maximal O₂ consumption.



'Cardiopulmonary gas exchange system

Stage	Time	Speed	Elevation	METS
1	3	1.7	0%	1.7
2	3	1.7	5%	2.8
3	3	1.7	10%	5.4
4	3	2.5	12%	7
5	3	3.4	14%	10
6	3	4.2	16%	13
7	3	5.0	18%	17

Modified Bruce protocol

APPENDIX H
Vascular assessment

APPENDIX H

Vascular assessment

Cutaneous blood flow assessment

Cutaneous blood flow study was performed on all participants on the right wrist with a laser Doppler flowmetry (DRT4 MoorLAB, Moor Instrument, UK), using the post-occlusive reactive hyperemic method. All participants rested in the supine position for 20 minutes. Baseline data was monitored for 1 min and then placed the cuff around the right upper arm, inflated rapidly to 200 mmHg for 5 minutes and deflated for 5 minutes of recovery (Betik et al. 2004). Blood flow data at baseline and after deflated cuff at maximal blood flow were collected.

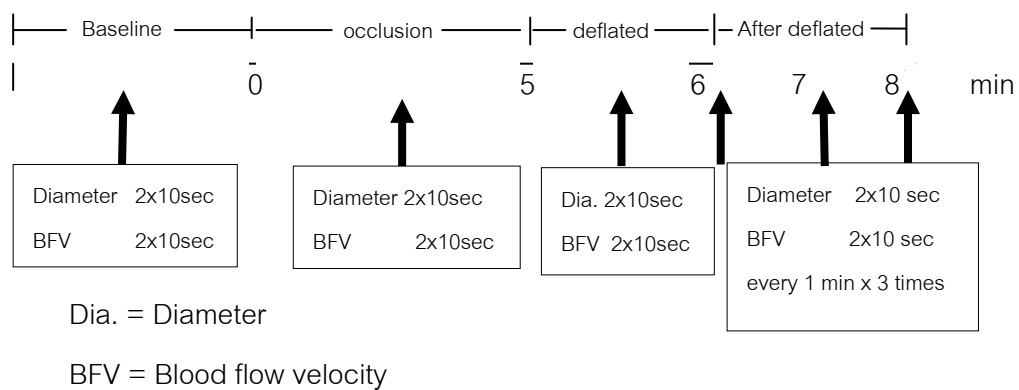
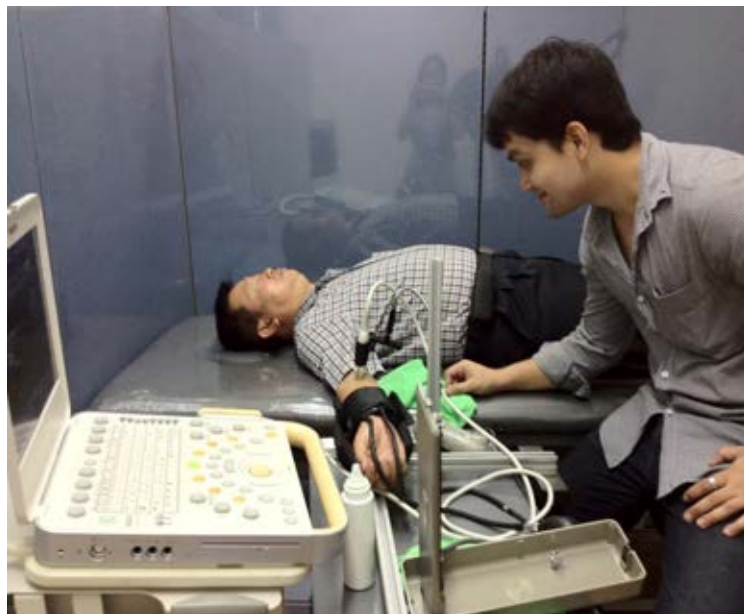


Laser Doppler flowmetry

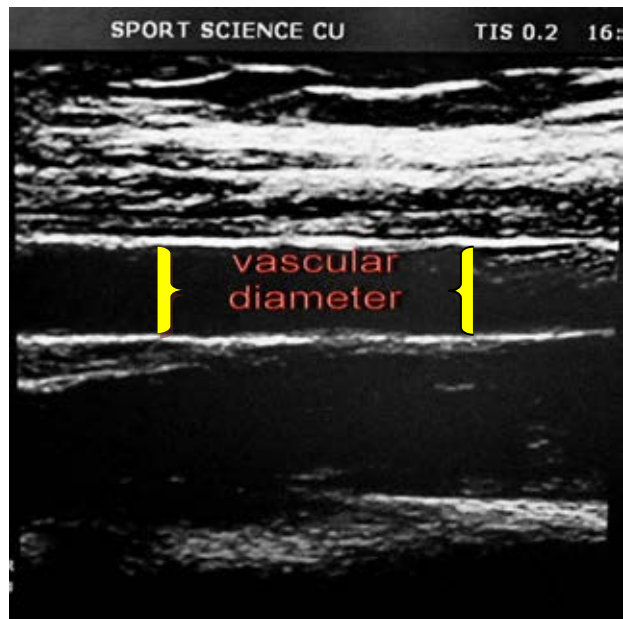
Brachial artery characteristics assessment

Brachial artery characteristics were assessed with the ultrasound equipment (CX50, Philips, USA), using the occlusion technique on the right forearm. All subjects rested in the supine position for 20 min. The brachial artery was imaged above the antecubital fossa in the longitudinal plane. Baseline data was monitored for 1 min and

then the cuff placed around the right forearm was inflated rapidly to 50 mmHg above systolic blood pressure for 5 min and deflated for 5 min of recovery (Corretti et al., 2002; Dhindsa et al., 2008). Mean blood velocity was collected by using the pulsed wave Doppler mode. Brachial analyzer program (Brachial Analyzer, Medical imaging applications, USA) was used for analyzing changes in vascular diameter. Shear rate was calculated by blood velocity/vascular diameter (Pyke et al., 2008). FMD was calculated using the formula $FMD = (d_2 - d_1) \times 100 / d_1$ when d_1 is the averaged the brachial artery diameter at baseline, d_2 is the averaged the maximal post occlusion brachial artery diameter (Naidu et al., 2011).



Protocol for ultrasound imaging



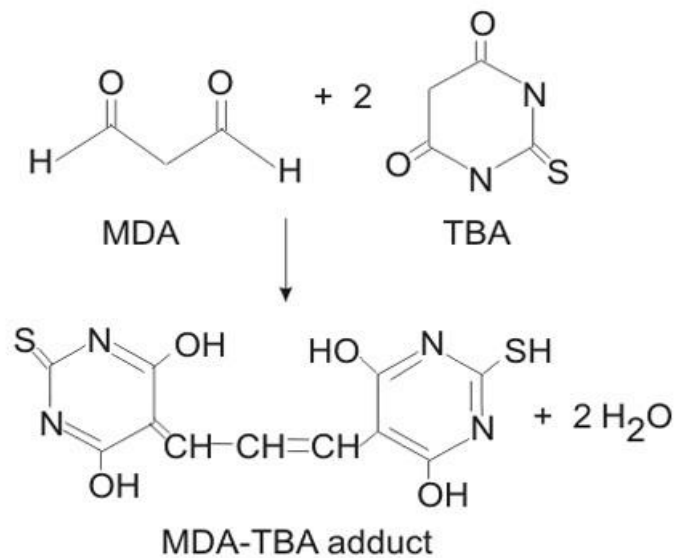
Imaging brachial artery diameters

APPENDIX I
Malondialdehyde

APPENDIX I

Malondialdehyde

Malondialdehyde (MDA) is a ROS which is derived from the lipid oxidation of cell membrane polyunsaturated fatty acid and its formula is $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. This compound is highly reactive and toxic and is used as a biomarker to measure the level of oxidative stress. Thiobarbituric acid reactive substances method is used for analyzing level of MDA (Nanhini TA and Anuradha CV, 2003), by the concept that one molecule of MDA can react with 2 molecules of thiobarbituric acid (TBA). The chemical reaction and the method of measurement are described as follows:



Reagents

1. Phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4
- Na_2HPO_4 2.27 g, NaH_2PO_4 0.12 g and NaCl 8.18 g are dissolved in distilled water until total volume of solution is 1,000 ml. The solution is adjusted to pH 7.4.
2. 30% Trichloroacetic acid (TCA)
-Dissolve trichloroacetic acid 30 g in distilled water until total volume of solution is 100 ml
3. Butylated hydroxyl toluene (BHT)

-Dissolve Butylated hydroxyl toluene 88 mg in ethanol 10 ml

4. 1% thiobarbituric acid (TBA)

-One g of 2-thiobarbituric acid in 100 ml distilled water

5. Malondialdehyde bis (diethylaceta) is used as external standard.

Samples

Use EDTA whole blood samples.

Sample preparation

Centrifuge whole blood for 10 minutes at 4°C, 3500 rpm and then separate the plasma and erythrocytes. The erythrocytes are washed four times with 3 ml of 0.85% normal saline; centrifuging for 10 minutes at 4°C, 3000 rpm after each wash.

Measurement of MDA; the sequences of the test are:

1. Draw 200 µl of each of washed erythrocytes, plasma, and diethylacetal (external standard) in three separate eppendorf tubes.
2. In each tube, add 800 µl of PBS, mix, and then add 30% TCA for erythrocyte lysis and protein precipitation
3. Add 25µl of BHT, mix, and then put in -20°C refrigerator for 2 hours for the completeness of erythrocyte lysis and protein precipitation
4. Centrifuge at 12,000 rpm for 10 minutes.
5. Separate the supernatant into the new eppendorf tubes.
6. Add 250 µl of 1% TBA in each tube, mix, and boil in heat box (ACCUBLOCK™ Digital Dry Bath, Labnet International) at 103°C for 15 minutes.
7. Stop the reaction by using cold water, draw 300µl of the solution and put in the 96-well-plate ELISA.
8. Measure light absorbance at 532 nm by using ELISA Reader (Enspire multilabel plate, Perkin-Elmer, USA)

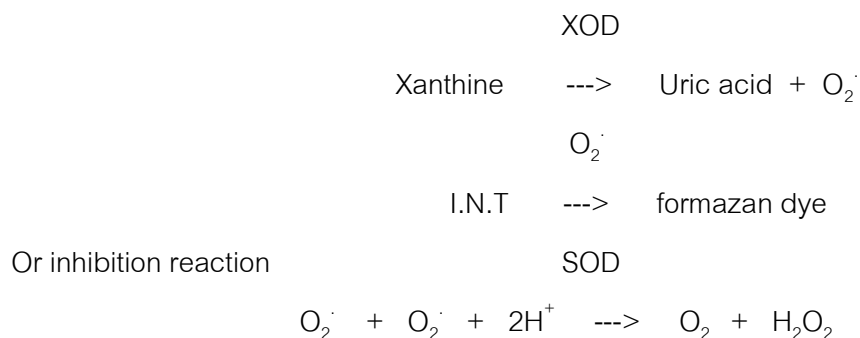
Construct the concentration graph of the external standard, and then calculate the lipid oxidation of the samples from the standard curve.

APPENDIX J
Superoxide dismutase

APPENDIX J

Superoxide dismutase

Superoxide dismutases (SOD_s) are group of enzymes that catalyze the dismutation of superoxide into oxygen and hydrogen peroxide. The test for SOD activity by using RANSOD kit (Randox Laboratories-US, Ltd., West Virginia, USA). The principle of this method is by employing xanthine and xanthine oxidase (XOD) to generate superoxide radical which react with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (I.N.T.) to form a red formazan dye. The ability of enzyme activity of SOD is to measure the degree of inhibition of the above reaction. One unit of SOD is equal to 50% inhibition of the rate of reduction of I.N.T. under the conditions of the assay. The equation for reaction is shown below.



Chemicals:

Contents	Initial Concentration of Solution
1. Mixed Substrate	
Xanthine	0.05 mmol/l
I.N.T	0.025 mmol/l
2. Buffer	
CAPS	40 mmol/l, pH 10.2
EDTA	0.94 mmol/l
3. Xanthine Oxidase	80 U/l
4. Standard	

Chemical for the analysis

1. Phosphate buffer saline (PBS buffer) 5 mmol/l pH 7.4

KH_2PO_4	MW 136.9	69.4 mg
$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	MW 228.23	783.57 mg

Dilute the above chemicals with distilled water until the total volume is 1,000 ml, adjust pH to 7.4.

2. Mixed substrate, keep at 2-8°C
3. Buffer, keep at 2-8°C
4. Xanthine Oxidase, keep 2-8°C
5. Standard, keep at 2-8°C

Standard	Standard concentration (mM)	Volume of Standard	Sample Diluent
S6	4.48	Undiluted Standard	-
S5	2.24	5 ml of S6	5 ml
S4	1.12	5 ml of S5	5 ml
S3	0.56	5 ml of S4	5 ml
S2	0.28	5 ml of S3	5 ml
S1	0.00	Sample Diluent	

6. Erythrocyte hemolysate preserved in EDTA

100 μl of erythrocyte hydrolysate is diluted in 2.5 ml of PBS buffer (final dilution factor = 100)

Automate analyser using kinetic mode program at wave length of 340 nm, interval time = 30 seconds, 10 rounds of measurement with 5 seconds shake interval time. The analytic process is performed as follows:

1. Automate analyser will automatically draw these below reagents into the wells at the cuvette roter serially as listed.

	Sample Diluent (ml)	Standard S2-S6 (ml)	Diluted Sample(ml)
Diluted sample	-	-	0.05
Standard	-	0.05	-
Ransod sample diluent	0.05	-	-
Mixed substrate	1.70	1.70	1.70
Mix well			
Xanthine oxidase	0.25	0.25	0.25

2. Mix thoroughly, and measure light absorbance of the samples and reagent blank at 30 seconds after the chemical reaction (A1) and repeat at 3 minutes after the A1 (A2).
3. Calculation of the test

$$\Delta A/\text{min (of standard or samples)} = A2-A1/3$$

A1= light absorbance at 30 seconds after the chemical reaction

A2= light absorbance at 3 minutes after A1

Sample diluents rate (S1 rate) = rate of unhibited reaction = 100%

% inhibition = $[100 - \Delta A/\text{min sample} \times 100] / \Delta A/\text{min blank}$

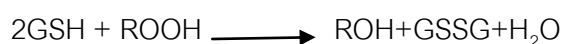
4. Construct the graft of % inhibition for standard by using log₁₀ graft (standard concentration in SOD units/ml), and then measure units of SOD of the samples from the standard curve.
5. Calculation of SOD units/ml in whole blood:
SOD units/ml of whole blood = SOD units/ml from standard curve x dilution factor
6. Calculation of SOD units/g of hemoglobin:
SOD units/g hemoglobin = $\frac{\text{SOD units/ml}}{\text{gram of hemoglobin}}$

APPENDIX K
Glutathione peroxidase

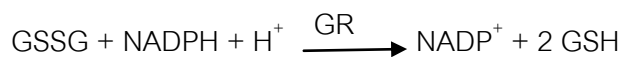
APPENDIX K

Glutathione peroxidase

Glutathione peroxidase (GPX) assay is performed by using RANSEL Glutathione peroxidase kit (Randox Laboratories-US-Ltd., West Virginia, USA) and this assay is an adaptation of the method of Plagia and Valentine (1967). GPX catalyses the reduction of an organic compound, ROOH, oxidizing reduced glutathione (GSH) to form oxidized glutathione (GSSG).



Oxidised glutathione (GSSG), by enzyme glutathione reductase (GR) and the presence of NADPH will convert to reduced glutathione (GSH) and NADP. The reduction of NADPH resulting in decreased absorbance at 340 nm.



1. Chemical reagents

Glutathione 4 mmol/l

Glutathione reductase ≥ 0.5 U/l

NADPH 0.34 mmol/l

2. Phosphate buffer 0.05 mol/l; pH 7.2, keep at 2-8 °C

3. EDTA 4.3 mmol/l, keep at 2-8 °C

4. Cumene hydroperoxide 0.18 mmol/l, keep at 2-8 °C

5. Diluting agent, keep at 2-8 °C

6. Drabkin's reagent

- potassium phosphate 1.4 mmol/l

- potassium ferricyanide 60.8 mmol/l

- potassium cyanide 78.8 mmol/l

- distilled water 480 ml

Keep at 15-25 °C

7. Specimens for analyses

- Whole blood in EDTA
- Erythrocyte hemolysate in EDTA
- Plasma in heparin

Whole blood for GPX:

1. Dilute 0.05 ml of whole blood with 1 ml of diluting agent.
2. Incubate at 37 °C for 5 minutes then add 1 ml of Drabkin's reagent, mix, and measure in automate analyser 20 minutes after adding Drabkin's reagent.

Erythrocyte hemolysate for GPX:

1. Dilute 0.05 ml of hemolysate with 1 ml of diluting agent.
2. Incubate at 37 °C for 5 minutes then add 1 ml of Drabkin's reagent, mix, and measure in automate analyser 20 minutes after adding Drabkin's reagent.

Plasma GPX:

Draw 200 µl of lithium heparinized plasma into a cup and then put in automate analyser

For Automates Analyser:

- Analysed by using kinetic mode program, at the wave length of 340 nm (for the detection of NADPH), interval time = 30 seconds, 10 rounds, shake interval time = 5 seconds.

The sequence of the reagents are as follows:

	Diluted sample (ml)	Reagent blank (ml)
Diluted sample	0.05	-
Distilled H ₂ O	-	0.05

Reagent	2.50	2.50
Cumene Hydroperoxide	0.10	0.10

The light absorbance for the sample and reagent blank will be detected at 1,2,3 and 4 minutes, respectively

Concentration without subtraction = $\frac{8421 \times (\text{OD at 1 min} - \text{OD at 4 min})}{\text{U/l}}$

APPENDIX L

Nitric oxide

APPENDIX L

Nitric oxide

Reconstitution of Reagents

1. Enzyme cofactor

-Reconstitute with 1.1 ml of Assay Buffer. Aliquot desired amount and store at -20°C . Keep on ice during use. Store at -20°C .

2. Enhancer

-Reconstitute with 1.1 ml distilled water. Store at $+4^{\circ}\text{C}$.

3. Nitrate Reductase

-Reconstitute to 1.1 ml with Assay Buffer. This dissolves slowly, so gently vortex 2-3 times over 15 minutes. Keep on ice during use. Store at $+4^{\circ}\text{C}$.

4. Nitrate and Nitrite Standards

-Reconstitute with 100 μl of Assay Buffer. Vortex and mix well to generate 100 mM standard. Store at $+4^{\circ}\text{C}$ when not in use (do not freeze!). The reconstituted standard is stable for 4 months when stored at $+4^{\circ}\text{C}$.

5. Griess Reagents R1 and R2

-Ready to use. Store at $+4^{\circ}\text{C}$.

Measurement of Nitrate + Nitrite

1. Nitrate standard curve: Mix 5 μl of the 100 mM reconstituted standard with 495 μl of Assay Buffer to generate 1 mM standard working solution. Note: DAN Probe reacts with nitrite, not nitrate. For routine total nitrite/nitrate assay, you may prepare a nitrate standard curve only. However, if you desire to measure nitrite, nitrate concentration separately, you may prepare a nitrite standard curve in the absence of Nitrate Reductase in the standard and assay samples. $\text{Nitrate} = \text{Total} - \text{Nitrite}$.

2. Preparation of samples: Up to 85 μl of sample can be added per assay and should be done in duplicate. When using less than 85 μl of sample, adjust volume to 85 μl with Assay Buffer. If the approximate nitrate/nitrite concentration is completely unknown, we recommend that several dilutions be made. Urine can have high nitrate

content and a 10 fold dilution should be used. Serum proteins will have a slight (~10%) effect on apparent nitrite levels. For best results serum filtrate from a 10Kd cutoff filter (Cat.No. PK-CA577-10KC-100) should be used. Typical urine levels are 0.2-2 mM and 1-20 uM respectively. Typical normal serum levels are ~20 uM and ~2 uM for nitrate and nitrite respectively with various disease states elevating these levels significantly. The absorbance of samples should be in the linear range of the standard curve (0-10 nmol/well). If they fall outside this range, they should be rediluted and rerun.

3. Assay procedure:

- Add 85 ul sample and 115 ul Assay Buffer as blank well.
- Add 0, 2, 4, 6, 8, 10 ul of standard to each well and adjust to 85 ul.
- Add 85 ul of sample or dilution to each unknown well.
- Add 5 ul of the Nitrate Reductase mixture to each well (standards and unknowns).
- Add 5 ul of the enzyme cofactor to each well (standards and unknowns).
- Cover the plate and incubate at room temperature for 1 hour to convert nitrate to nitrite.
- Add 5 ul of the enhancer to each well and incubate 10 minutes.
- Add 50 ul of Griess Reagent R1 to each well (standards and unknowns).
- Add 50 ul of Griess Reagent R2 to each well (standards and unknowns).
- Develop the color for 10 minutes at room temperature. The color is stable for about an hour.
- Read the absorbance at 540 nm using a plate reader.

BIOGRAPHY

NAME	Mr. Witid Mitranun
DATE OF BIRTHDAY	January, 11, 1986
PLACE OF BIRTH	Bangkok, Thailand
INSTITUTIONS ATTENDED	Chulalongkorn University, 2004-2007 : Bachelor of Science (Sports Science ; Sports Technology) (First degree honour, Gold medal) Chulalongkorn University, 2008-2009 : Master of Science (Sports Science ; Sports Physiology) Chulalongkorn University, 2010-2012 : Ph.D. Candidate (Sports Science ; Health Promotion Science)