



Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina

Laboratorial

ISSN: 1676-2444

jbpm@sbpc.org.br,adagmar.andriolo@g
mail.com

Sociedade Brasileira de Patologia
Clínica/Medicina Laboratorial

Bombarda, Juliana; Carvalho Melo, Juliana; Rosa de Souza, Elias; de Toledo Nóbrega,
Otávio; Córdova, Claudio

Exercício abaixo do limiar anaeróbio aumenta as atividades fagocítica e microbicida de
neutrófilos em ratos Wistar

Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, vol. 45, núm. 1, febrero, 2009, pp.
9-15

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Rio de Janeiro, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=393541946004>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

Exercício abaixo do limiar anaeróbio aumenta as atividades fagocítica e microbicida de neutrófilos em ratos Wistar

Exercise below the anaerobic threshold increases phagocytic and microbicidal activities of neutrophils in Wistar rats

Primeira submissão em 14/11/08
Última submissão em 03/02/09
Aceito para publicação em 16/02/09
Publicado em 20/02/09

Juliana Bombarda¹; Juliana Carvalho Melo²; Elias Rosa de Souza³; Otávio de Toledo Nóbrega^{4,5}; Claudio Córdova⁶

unitermos	resumo
Exercício	
Sistema imunitário	
Fagocitose	
Monócitos	
Neutrófilos	
Ratos	
	<p>Objetivo: Investigar o efeito de uma sessão de exercício abaixo do limiar anaeróbio sobre as funções de neutrófilos e monócitos circulantes em ratos Wistar. Material e método: Trata-se de um delineamento experimental com um pós-teste em que os sujeitos do grupo experimental exercitaram-se na água por 30 minutos enquanto controles não foram submetidos a qualquer intervenção. A atividade funcional dos fagócitos circulantes foi avaliada por ensaio de fagocitose de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e pelo teste de redução de nitroazul de tetrazólio (NBT). Para comparação entre as médias dos grupos, utilizaram-se testes <i>t</i> para amostras independentes com $p < 0,05$. Resultado: Não foram observadas diferenças significativas no número total e diferencial de leucócitos entre os grupos. Entretanto, neutrófilos do grupo experimental não apenas fagocitaram mais <i>S. cerevisiae</i> ($p = 0,005$) como também foram mais eficientes em reduzir NBT ($p = 0,018$) em relação aos controles. Não existiram diferenças significativas na atividade funcional dos monócitos entre os grupos. Conclusão: O exercício realizado com intensidade abaixo do limiar anaeróbio foi suficiente para incrementar a atividade fagocítica e microbicida de neutrófilos em modelo animal, o mesmo não sendo observado para monócitos circulantes.</p>

Objective: To assess the effect of a single session of exercise conducted below the anaerobic threshold on the functions of neutrophils and circulating monocytes in Wistar rats. **Material and Method:** This study had an experimental design with a single post-test in which subjects of the experimental group exercised in water for 30 minutes, whereas the control group was not submitted to any intervention. Functional capacity of circulating phagocytes was assessed by means of a phagocytosis assay of *Saccharomyces cerevisiae* and a nitro blue tetrazolium (NBT) reduction test. To compare means between groups, *t* tests for independent samples were used with p set at < 0.05 . **Results:** There were no significant differences as to the total and differential number of leucocytes between groups. Nonetheless, not only did the neutrophils of the experimental group phagocytose more *S. cerevisiae* ($p = 0.005$), but they also reduced NBT more efficiently ($p = 0.018$) in comparison with control subjects. No significant differences in these functional activities were observed in circulating monocytes. **Conclusion:** The exercise performed below the anaerobic threshold was sufficient to increase both phagocytic and microbicidal activities of neutrophils in animal model, but the same protocol did not yield similar results for circulating monocytes.

key words

Exercise
Immune system
Phagocytosis
Monocytes
Neutrophils
Wistar rats

1. Acadêmica do Curso de Psicologia, iniciação científica, da Universidade Católica de Brasília (UCB).
2. Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Educação Física e Saúde da UCB.
3. Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas, iniciação científica, da UCB.
4. Doutor em Patologia Molecular; pesquisador do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Gerontologia da UCB.
5. Professor adjunto da Faculdade UnB Ceilândia, da Universidade de Brasília (UnB).
6. Doutor em Ciências da Saúde; pesquisador do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Educação Física e Saúde da UCB.
Apoio financeiro pela UCB/DF (processo SIGEP # 01/2005).

Introdução

A importância da imunologia do exercício reside em determinar se as alterações induzidas pelo exercício físico sobre o sistema imunitário podem contribuir para a proteção ou como coadjuvante ao tratamento de pacientes com câncer, diabetes tipo 2, artrites e outras patologias crônicas^(1, 2, 28). Atualmente as doenças crônicas representam a maior causa de morte no mundo⁽¹⁵⁾. Assim, a utilização de intervenções não-medicamentosas, visando à ativação imunitária, por profissionais da área da saúde, em destaque fisioterapeutas, educadores físicos e médicos do desporto, pode contribuir para a qualidade de vida dessas pessoas.

Entretanto, para a compreensão dos mecanismos pelos quais o exercício físico interfere na resposta imunitária, é fundamental investigar se as alterações refletem mudanças no número de células imunocompetentes, na capacidade funcional ou em ambas^(1, 11, 13, 22). Por exemplo, quando o exercício é realizado com breve duração (< 1 h), sua intensidade é determinante para a verificação da leucocitose⁽⁷⁾. Por outro lado, pouco se conhece sobre a capacidade funcional de fagócitos^(1, 3, 27).

Uma vez que não existem, até o momento, trabalhos investigando os efeitos do exercício físico sobre a função fagocítica e microbicida de monócitos e neutrófilos circulantes em ratos Wistar, o objetivo deste trabalho consistiu em investigar o efeito de uma sessão de exercício com curta duração e intensidade leve a moderada sobre a atividade funcional de fagócitos em ratos Wistar.

Materiais e métodos

Animais

Foram utilizados 16 ratos machos da raça Wistar, com massa entre 150 e 200 g, obtidos na Empresa Bioagre (Planaltina-DF). Os animais foram alimentados com ração Labina (Purina, São Paulo-SP) e água *ad libitum* e mantidos em caixas de polipropileno (3/caixa) com temperatura mantida a 22°C ± 2°C, umidade a 55% ± 10% e ciclo claro/escuro de 12 horas no biotério do Laboratório de Estudos em Educação Física e Saúde (LEEFS). A presente investigação foi aprovada pela Comissão de Ética da Instituição (Ofício nº 075/2006).

Delineamento e protocolo experimental

Trata-se de um delineamento experimental com pós-teste. Após duas semanas no biotério, os animais foram

divididos aleatoriamente em dois grupos: experimental e controle. Sujeitos do grupo experimental ($n = 8$) foram adaptados por três dias ao meio líquido (31°C ± 1°C). No primeiro dia, os animais permaneceram por 15 minutos em tanque com capacidade para 100 litros, com nível de água em 15 cm de altura. No segundo dia, 15 minutos de atividade foram iniciados com nível de água em 30 cm, enquanto no último dia, o nível de água foi elevado para 45 cm. Em seguida, cada animal foi individualmente submetido a uma única sessão de natação com duração de 30 minutos e altura da coluna de água em 45 cm. Os animais do grupo controle ($n = 8$) não foram submetidos a qualquer intervenção que envolvesse adaptação ao meio líquido ou exercício físico.

Coleta de sangue para as medidas bioquímicas e celulares

Após sedação dos animais com éter PA, amostras de sangue (2 ml) foram coletadas por punção cardíaca com seringas descartáveis e umedecidas com heparina para a realização das medidas bioquímicas e celulares.

Leucometria

Amostras de sangue foram diluídas 1:20 em solução de Turk⁽²⁰⁾ e leucócitos foram contados em câmara de Neubauer melhorada (Labex, Aparecida de Goiânia, Brasil) com auxílio de microscopia óptica utilizando-se da seguinte equação: leucócitos/mm³ = [(Q₁ + Q₂ + Q₃ + Q₄)/4 × 10 × 20], onde: Q_n = nº de células no quadrante n da câmara; 10 = fator de conversão para 1 mm³ (profundidade da lâmina); 20 = fator de conversão da diluição. Para a contagem diferencial de leucócitos foram observadas cem células em campos distribuídos aleatoriamente conforme procedimentos descritos por Silva e Hashimoto⁽¹⁸⁾.

Preparação de leveduras

Para a preparação da suspensão-estoque de leveduras, a técnica utilizada foi descrita por Lachmann e Hobart⁽⁵⁾, em que a modificação da superfície da levedura *S. cerevisiae* possibilita a adsorção do componente C3, assim como de moléculas de imunoglobulinas. Brevemente, 50 g de fermento fresco (Fleischmann®) foram suspensos em 220 ml em solução isotônica salina tamponada com fosfato a 0,05 M (STF), pH 7,2, sendo a suspensão autoclavada a 120°C por 30 minutos e, em seguida, lavada com a mesma solução por centrifugação. Esse procedimento foi repetido até se obter sobrenadante límpido, que era desprezado. O sedimento era suspenso em 28 ml de STF contendo 0,1 M de

2-mercaptopetanol. Após duas horas de incubação a 37°C com agitação, a suspensão foi lavada novamente, e o sedimento restante, ressuspensão em 55 ml em solução STF contendo iodoacetamida a 0,02 M. Após mais duas horas de incubação com agitação, a suspensão foi lavada três vezes e ressuspensa em 220 ml de STF, pH 7,2. A suspensão foi autoclavada por 30 minutos a 120°C e, em seguida, lavada com STF, pH 7,2, por centrifugação, até se obter sobrenadante límpido, sendo finalmente ressuspensa em 110 ml de tampão veronal, pH 7,2, contendo azida sódica (200 mg/l). A suspensão de leveduras era armazenada a 4°C para utilização por período não superior a uma semana após sua produção.

Teste de fagocitose

A fagocitose de *Saccharomyces cerevisiae* foi adaptada a partir da técnica descrita por Muniz-Junqueira *et al.*⁽⁸⁾. Brevemente, amostras de sangue (40 µl) em duplicata foram pipetadas em lâminas de vidro contendo oito escavações com 7 mm de diâmetro cada escavação. O material foi incubado em câmara úmida por 45 min a 37°C. A seguir, as lâminas foram, rapidamente, mergulhadas em solução PBS, pH 7,2 a 37°C para remover células não-aderidas. Após a lavagem, neutrófilos e monócitos permaneceram aderidos nas escavações com aproximadamente as mesmas proporções verificadas no sangue. As células aderentes foram então incubadas com 20 µl de suspensão contendo 2,5 x 10⁵ leveduras (*S. cerevisiae*) em solução Hanks-tris (Sigma, St. Louis, MO, USA), pH 7,2 com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Cultilab, Campinas, Brasil). Após 30 min de incubação em câmara úmida a 37°C para permitir a fagocitose, as lâminas foram enxaguadas com solução PBS a 37°C para eliminar *S. cerevisiae* não-fagocitadas e lavadas com SFB a 30% em Hanks-tris a 37°C. A seguir foram fixadas com metanol e coradas com solução de Giemsa. O número de *S. cerevisiae* fagocitadas por 200 monócitos ou 200 neutrófilos em preparações individuais foi avaliado por microscopia óptica. Os campos utilizados para as contagens foram aleatoriamente selecionados e todos os monócitos ou neutrófilos encontrados foram examinados. O índice de fagocitose foi calculado como o produto dos seguintes fatores: a) média de *S. cerevisiae* fagocitado por monócitos ou neutrófilos, conforme o cálculo; b) proporção de monócitos ou neutrófilos envolvidos em fagocitose, conforme o cálculo⁽¹⁰⁾.

Teste de redução do nitroazul de tetrazólio

O teste do nitroazul de tetrazólio (NBT) foi adaptado a partir da técnica descrita por Park, Fikrig e Smithwick⁽¹⁴⁾ com o objetivo de avaliar o mecanismo microbicida de fagócitos

por meio de sua habilidade para produzir espécies de oxigênio capazes de reduzir o NBT para a sua forma insolúvel (formazan), a qual é identificada sob microscopia óptica pela cor azul no citoplasma celular. A quantidade de NBT reduzida é diretamente proporcional à quantidade de espécies reativas de oxigênio produzidas por fagócitos, e essas moléculas estão entre os principais agentes microbicidas produzidos por fagócitos^(9,24). Brevemente, fagócitos aderidos às escavações, obtidos como anteriormente descrito, foram incubados com solução Hanks-tris contendo NBT a 0,05% por 20 min a 37°C em câmara úmida. As lâminas foram então enxaguadas, fixadas com metanol e coradas com solução a 1,4% de safranina e 28,6% de glicerol em água destilada. O percentual de fagócitos que reduziu o NBT em seu citoplasma foi determinado a partir da contagem de 200 neutrófilos e 200 monócitos encontrados, determinando-se aqueles que reduziram o NBT.

Determinação da concentração do lactato sanguíneo

Amostras com 25 µl de sangue foram depositadas em tubos Eppendorf contendo 50 µl de fluoreto de sódio a 1%. O material foi congelado a -20°C para posterior determinação das concentrações de lactato sanguíneo (mMol/l) em analisador bioquímico (YSI Model 2700 SELECT, Yellow Springs, OH, USA).

Análises estatísticas

O teste *t* de Student para amostras independentes foi utilizado para a comparação entre as médias dos dois grupos sobre cada variável dependente. Diferenças com valores bicaudais de $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas. O pacote estatístico SPSS versão 8.0 foi utilizado para as análises dos dados e elaboração das figuras.

A análise exploratória dos dados revelou um caso extremo (*outlier*) na variável proporção de fagócitos redutores de NBT no grupo experimental. Após correção conforme procedimentos descritos por Tabachnick e Fidell⁽²¹⁾, o resultado do teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov confirmou a distribuição normal dos dados.

Resultados

Diferença significativa ($p < 0,001$) foi encontrada entre as médias de concentração de lactato sanguíneo para

os grupos controle ($1,7 \pm 0,3$ mMol/l) e experimental ($2,8 \pm 0,5$ mMol/l). A comparação entre os valores médios de leucócitos totais e diferenciais observados nos grupos experimental e controle não revelou diferenças significativas dessas freqüências celulares (**Tabela 1**).

Média \pm desvio padrão observada para os grupos controle e experimental sobre a contagem total (nº de células $\times 10^3/\text{mm}^3$ de sangue) e diferencial de leucócitos

Tabela 1

	Controle (n = 8)	Experimental (n = 8)	Valor p
Leucócitos totais	$7,6 \pm 1,7$	$7,8 \pm 1,0$	0,68
Neutrófilos	$16,3 \pm 5,3$	$15,6 \pm 5,3$	0,64
Monócitos	$2,9 \pm 1,4$	$3,7 \pm 2,0$	0,25
Linfócitos	$79,9 \pm 7,0$	$82,6 \pm 5,4$	0,51

No que se refere às funções fagocíticas de monócitos e neutrófilos, alterações foram observadas comparativamente entre os grupos e encontram-se representadas na **Tabela 2** e ilustradas na **Figura**. De modo geral, animais do grupo experimental apresentaram função fagocítica aumentada quando comparados com os controles. A média do índice de fagocitose de neutrófilos nos animais que se exercitaram foi quase duas vezes superior em relação ao grupo sem exercício. O menor índice de fagocitose verificado no grupo controle foi associado tanto ao menor número de *S. cerevisiae* fagocitados como a uma menor proporção de neutrófilos fagocitantes. Em contrapartida, não se observou diferença estatisticamente significativa no índice de fagocitose para monócitos entre os grupos.

A capacidade para produzir espécies reativas de oxigênio, avaliada por meio do percentual de redução de NBT, também foi influenciada pelo exercício físico. Em neutrófilos, os resultados revelaram que esse mecanismo microbicida foi mais eficiente no grupo experimental quando comparado ao controle. Entretanto, monócitos não exibiram diferenças significativas em sua capacidade de redução de NBT conforme indicado na Tabela 2 e na Figura.

Média \pm desvio padrão das variáveis de função fagocítica e capacidade de produção de radicais de oxigênio microbicida avaliados *in vitro* para neutrófilos e monócitos circulantes, observados para os grupos experimental e controle

Tabela 2

	Controle (n = 8)	Experimental (n = 8)	Valor p
Nº de <i>S. cerevisiae</i> fagocitadas/monócito	$2,1 \pm 0,4$	$2,3 \pm 0,6$	0,414
Nº de <i>S. cerevisiae</i> fagocitadas/neutrófilo	$2,7 \pm 0,7$	$3,6 \pm 1,0$	0,06
% monócitos que fagocitaram	$69,8 \pm 12,1$	$71,8 \pm 9,0$	0,713
% neutrófilos que fagocitaram	$78,7 \pm 5,6$	$90,6 \pm 8,3$	0,005
Índice de fagocitose (monócitos)	$143 \pm 24,5$	$167,7 \pm 55,7$	0,271
Índice de fagocitose (neutrófilos)	$213,1 \pm 53,2$	$328,9 \pm 109$	0,017
% redução NBT (monócitos)	$73,7 \pm 7,2$	$73,4 \pm 7,7$	0,947
% redução NBT (neutrófilos)	$76,7 \pm 10,9$	$88,2 \pm 5,6$	0,018

NBT: nitroazul de tetrazólio.

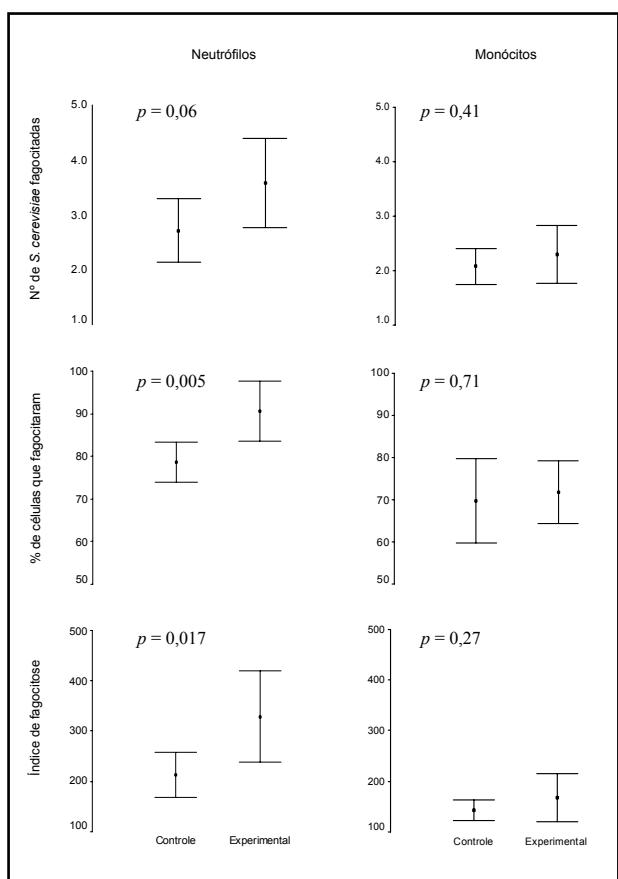


Figura – Capacidade fagocítica de neutrófilos e monócitos dos grupos controle ($n = 8$) e experimental ($n = 8$). As médias representam o número de *Saccharomyces cerevisiae* fagocitadas (acima), o percentual de fagocitados que fagocitaram (meio) e os índices de fagocitose (IF) (abaixo). As linhas verticais representam os intervalos de confiança de 95% para as médias. Testes *t* para amostras independentes foram utilizados para comparar os grupos. Diferenças estatisticamente significativas entre grupos foram determinadas para valores de $p < 0,05$.

Discussão

Os resultados desta investigação sugerem que a intensidade e a modalidade do exercício realizado foram suficientes para estimular a atividade funcional de neutrófilos circulantes em ratos Wistar. É importante ressaltar que os animais realizaram o exercício com a concentração de lactato sanguíneo cerca de 62% abaixo do limiar anaeróbio previsto para ratos Wistar ($7,1 \pm 0,2$ mMol/l), o que é compatível com intensidade leve a moderada conforme estudo de Voltarelli, Gobatto e Mello⁽²⁶⁾, de modo a configurar estresse aplicado ao modelo animal⁽⁴⁾.

Como principal resultado deste estudo, neutrófilos polimorfonucleares do grupo experimental não apenas exibiram maior capacidade fagocítica, representada pela captação de leveduras, como também apresentaram maior capacidade microbicida, em vista da maior eficiência em

reduzir NBT em relação aos controles. Dessa forma, nossos resultados corroboram a noção de que o exercício físico pode representar um importante mecanismo não-farmacológico capaz de proteger hospedeiros contra infecções. Por outro lado, os grupos não revelaram diferenças significativas na capacidade funcional de monócitos circulantes. Esse resultado sugere que o sistema monócitos/macrófagos pode depender do protocolo de exercício assim como da localização anatômica para a expressão de seu fenótipo funcional⁽²⁷⁾. Monócitos constituem uma classe relativamente imatura de fagócitos presentes na circulação periférica ou marginadas ao endotélio vascular, fonte essa que representa até 70% de sua população e que demanda migração para o tecido como requisito para plena diferenciação celular⁽²⁵⁾. Apesar dessa relativa imaturidade, os monócitos em nosso estudo ainda assim foram capazes de responder ao estímulo antigênico apresentado, independentemente de sua condição experimental ou de controle (Figura). Dessa forma, pode-se justificar o índice fagocitário diferenciado entre monócitos e neutrófilos pelo fato de o estresse induzido pelo exercício ter se mostrado insuficiente para induzir alterações significativas sobre o sistema nervoso simpático e o eixo adreno-pituitário-hipotalâmico a ponto de produzir mediadores hormonais em níveis compatíveis com ativação direta sobre monócitos.

Quanto aos efeitos do exercício sobre a contagem dos leucócitos totais e diferenciais, os resultados não revelaram diferenças significativas entre os grupos. É possível que o nível de estresse produzido pelo exercício tenha sido insuficiente para induzir significativa desmarginação dos leucócitos. Em regra, intensidade e duração do exercício são variáveis que determinam a extensão da leucocitose⁽¹⁶⁾, e a transiente monocitose verificada sob o estresse fisiológico depende do aumento da concentração de catecolaminas plasmáticas^(6, 23). Entretanto, modificações na contagem diferencial nem sempre são acompanhadas por alterações funcionais⁽¹⁹⁾, e esse parece ter sido o caso para a significativa resposta funcional por neutrófilos observada nesta investigação, embora os resultados não tenham revelado substanciais diferenças na contagem dessas células entre os grupos.

No tocante ao fato de a função de monócitos não ter sido influenciada pelo exercício, aventou-se a possibilidade de o tamanho da amostra ter sido insuficiente para a verificação de resultado significativo sobre o índice de fagocitose. Entretanto, considerando os respectivos valores das médias e dos desvios padrão, com o nível de significância de 5% e poder do teste em 80%, o cálculo do dimensionamento

amostral fundamentado em teste bilateral para amostras independentes revelou uma amostra mínima de 76 animais. Portanto, com base nesse resultado, a hipótese de um erro tipo 2 parece improvável.

Em conjunto, os resultados deste trabalho, além de corroborar outros estudos que sugerem as intervenções agudas de intensidade leve a moderada como alternativa não-medicamentosa para proporcionar melhoramentos sobre o sistema imunitário inato^{3, 12, 30}, ampliam a concepção vigente no sentido de estender o aumento da capacidade fagocítica e da microbicida aos neutrófilos circulantes, ao menos em ratos Wistar.

Uma das limitações deste trabalho se refere à impossibilidade natural de extração direta dos resultados obtidos em modelos animais para seres humanos. Entre-

tanto, modelos animais são amplamente utilizados para a investigação dos mecanismos neuroimunofisiológicos em humanos¹⁷. Novos trabalhos devem ser realizados com o objetivo de investigar os mecanismos responsáveis pelas mudanças induzidas pelo exercício sobre a função de fagócitos circulantes em ratos Wistar.

Conclusão

Os resultados desta investigação sugerem que o exercício físico realizado com intensidade leve a moderada foi suficiente para incrementar a atividade fagocítica e microbicida de neutrófilos em modelo animal. O mesmo efeito, contudo, não foi observado para monócitos circulantes.

Referências

1. BLANNIN, A. K.; GLEESON, M.; BROOKS, S. Effect of lactacidosis on human leucocyte adherence: a possible explanation of why the leucocyte count continues to rise after cessation of very high intensity exercise. In: GLEESON, M. *Immune function in sport and exercise*. Philadelphia: Elsevier, 2006. p.67-89.
2. FAIREY, A. S. et al. Physical exercise and immune system function in cancer survivors. *Cancer*, v. 94, n. 2, p. 539-51, 2002.
3. FERREIRA, C. K. O. et al. Efeitos agudos do exercício de curta duração sobre a capacidade fagocitária de macrófagos peritoneais em ratos sedentários. *Rev Bras Fisiol*, v. 11, n. 3, p. 191-7, 2007.
4. GOBATTO, C. A. et al. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, v. 130, n. 1, p. 21-7, 2001.
5. LACHMANN, P. J.; HOBART, M. J. Complement genetics in relation to HLA. *Br Med Bull*, v. 34, n. 3, p. 247-52, 1978.
6. LANDMANN, R. M. A. et al. Changes of immunoregulatory cells induced by psychological and physical stress: relationship to plasma catecholamines. *Clin Exp Immunol*, v. 58, n.1, p. 127-35, 1984.
7. McCARTH, D. A.; DALE, M. M. The leucocytosis of exercise: a review and model. *Sports Med*, v. 6, n. 6, p. 333-63, 1998.
8. MUNIZ-JUNQUEIRA, M. I. et al. Novel microtechnique for assessment of postnatal maturation of the phagocytic function of neutrophils and monocytes. *Clin Diagn Lab Immunol*, v. 10, n. 6, p. 1096-102, 2003.
9. MUNIZ-JUNQUEIRA, M. I. et al. Differing phagocytic function of monocytes and neutrophils in Chagas' cardiopathy according to the presence or absence of congestive heart failure. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 37, n. 6, p. 447-53, 2004.
10. MUNIZ-JUNQUEIRA, M. I.; PRATA, A.; TOSTA, C. E. Phagocytic and bactericidal function of mouse macrophages to *Salmonella typhimurium* in *Schistosomiasis mansoni*. *Am J Trop Med Hyg*, v. 46, n. 2, p. 132-6, 1992.
11. ORTEGA, E. et al. Phagocytic function in cyclists: correlation with catecholamines and cortisol. *J Appl Physiol*, v. 91, n. 3, p. 1067-72, 2001.
12. ORTEGA, E. Neuroendocrine mediators in the modulation of phagocytosis by exercise: physiological implications. *Exerc Immunol Rev*, v. 9, n. 1, p. 70-93, 2003.
13. ORTEGA, E. et al. Norepinephrine as mediator in stimulation of phagocytosis induced by moderate exercise. *Eur J Appl Physiol*, v. 93, n. 5-6, 714-8, 2005.
14. PARK, B. H.; FIKRIG, S. M.; SMITHWICK, E. M. Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils: a diagnostic aid. *Lancet*, v. 2, n. 7567, p. 532-4, 1968.
15. PETERSEN, A. M. W.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammation effect of exercise. *J Appl Physiol*, v. 98, n. 4, p. 1154-62, 2005.
16. RINCÓN, E. O. Physiology and biochemistry: influence of exercise on phagocytosis. *Int J Sports Med*, v. 15, Suppl 3, p. S172-8, 1994.
17. ROWBOTTOM, D. G.; GREEN, K. J. Acute exercise effects on the immune system. *Med Sci Sports Exerc*, v. 32, n. 7, p. 396-405, 2000.
18. SILVA, P. H.; HASHIMOTO, Y. *Interpretação laboratorial do leucograma*. São Paulo: Robe Editorial, 2003.
19. SMITH, J. A. Exercise immunology and neutrophils. *Int J Sports Med*, v. 18, Suppl 1, S46-55, 1997.
20. STIBBE, W.; WEISE, M.; SEIDEL, D. Automated platelet count in thrombocytopenic patients: a comparison of methods. *J Clin Chem Clin Biochem*, v. 23, n. 7, p. 339-404, 1985.
21. TABACHNICK, B. G.; FIDELL, L. S. *Using multivariate statistics*. 3rd ed. New York: Harper & Row, 1996.

22. TIMMONS, B. W.; TARNOPOLSKY, M. A.; BAR-OR, O. Sex-based effects on the distribution of NK cell subsets in response to exercise and carbohydrate intake in adolescents. *J Appl Physiol*, v. 100, n. 5, p. 1513-9, 2006.
23. TVEDE, N. et al. Evidence that the effect of bicycle exercise on blood mononuclear cell proliferative responses and subsets is mediated by epinephrine. *Int J of Sports Med*, v. 15, n. 2, p. 100-4, 1994.
24. UNDERHILL, D. M.; OZINSKY, A. Phagocytosis of microbes: complexity in action. *Annu Rev Immunol*, v. 20, p. 825-52, 2002.
25. van FURTH, R.; SLUITER, W. Distribution of blood monocytes between a marginating and a circulating pool. *J Exp Med*, v. 163, n. 2, p. 474-9, 1986.
26. VOLTARELLI, F. A.; GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res*, v. 35, n. 11, p. 1389-94, 2002.
27. WOODS, J. A. et al. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise-induced modulation of macrophage function. *Immunol Cell Biol*, v. 78, n. 5, p. 545-53, 2000.
28. WOODS, J. A. Physical activity, exercise, and immune function. *Brain Behav Immun*, v. 19, n. 5, p. 369-70, 2005.
29. WOODS, J. A. Exercise and neuroendocrine modulation of macrophage function. *Int J Sports Med*, v. 21, Suppl 1, p. S24-30, 2000.
30. YANO, H.; KINOSHITA, S.; KIRA, S. Effects of acute moderate exercise on the phagocytosis of Kupffer cells in rats. *Acta Physiol Scand*, v. 182, n. 2, p. 151-60, 2004.

Endereço para correspondência

Cláudio Córdova
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Educação Física e Saúde
Universidade Católica de Brasília, Q.S. 07, lote 01, EPCT, Águas Claras
CEP 72030-170 – Taguatinga-DF
Fax: (61) 3356-3010
e-mail: claudioucb@yahoo.com.br