

Proposta de modelo matemático para estimativa do número de leucócitos circulantes pós-exercício agudo em ratos Wistar

Propose of a mathematical model to estimate the number of circulating leukocytes after exercise in Wistar rats

BRITO CJ, NÓBREGA OT, MENDES EL, MARINS JCB, FERREIRA AP, CÓRDOVA C. Proposta de um modelo matemático para estimativa do número de leucócitos circulantes pós-exercício agudo em ratos Wistar. *R. bras. Ci. e Mov* 2013;21(4):41-47.

RESUMO: Sugere-se que os efeitos do exercício físico sobre o sistema imunitário possam contribuir tanto para o tratamento de doenças crônicas quanto para a prevenção de processos infecciosos oportunistas. Entretanto, para que este propósito seja alcançado, é importante a especificação e a prescrição do protocolo de exercício. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo investigar os efeitos da intensidade do exercício agudo no número de leucócitos circulantes em ratos Wistar e de erigir modelos matemáticos-estatísticos capazes de predizerem o número celular em função da concentração de lactato sanguíneo (mmol.L^{-1}). Os resultados sugerem que a relação polinomial cúbica foi a que melhor representou a relação entre leucócitos ($R^2=0,91$), linfócitos ($R^2=0,90$), monócitos ($R^2=0,46$), e neutrófilos ($R^2=0,81$). Exceto para os monócitos, sugere-se forte relação entre a concentração de lactato sanguíneo e o número de leucócitos circulantes pós-exercício.

Palavras-chaves: Exercício Agudo; Imunidade Celular; Contagem de Leucócitos; Ratos Wistar

ABSTRACT: It is suggested that the effects of physical exercise on the immune system may not only significantly contribute in the treatment of chronic diseases, but also in the prevention of opportunist infection processes. For this reason, both the specification and prescription of the exercise protocol are important. Thus, the aim of this work is to investigate the effects of acute exercise intensity on the number of circulating leukocytes in Wistar rats, and to construct mathematical models that are capable of predicting the number of cells in relation to the sanguineous lactate concentration (mmol.L^{-1}). The results suggested that a cubic polynomial relationship best represented the relationship between leukocytes ($R^2=0.91$), lymphocytes ($R^2=0.90$), monocytes ($R^2=0.46$), and neutrophils ($R^2=0.81$). With the exception of monocytes, a strong relationship is suggested between sanguineous lactate concentration and the number of circulating leukocytes post-exercise.

Key Words: Acute exercise; Cellular Immunity; Leukocytes Count; Wistar Rats.

Ciro J. Brito¹
Otávio de T. Nóbrega²
Edmar L. Mendes³
João C. B. Marins⁴
Aparecido P. Ferreira⁵
Cláudio Córdova⁶

¹Núcleo de Estudos em Desempenho Esportivo e Saúde. Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Educação Física, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, SE

²Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Universidade de Brasília, DF.

³Departamento de Ciências do Esporte e Curso de Mestrado em Educação Física da Universidade Federal do Triângulo Mineiro – Uberaba, MG

⁴Departamento de Educação Física, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG

⁵Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa, das Faculdades Integradas Promove, Brasília, DF

⁶Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Educação Física, Universidade Católica de Brasília, DF.

Enviado em: 29/07/2013
Aceito em: 29/09/2013

Contato: Ciro José Brito – cirojbrito@gmail.com

Introdução

Os efeitos do exercício físico sobre o sistema imunitário podem contribuir como coadjuvante não medicamentoso para o tratamento de doenças crônicas¹⁻⁴. Não é recente a hipótese de que a configuração do programa de exercícios, ou seja, a duração, a frequência e a intensidade do exercício influenciem o tipo de resposta leucocitária⁴⁻⁶. Nessa linha, sugere-se que o exercício moderado melhora^{3,7-9}, ao passo que o exercício intenso induz a transitória imunossupressão¹⁰.

Entretanto, não há consenso sobre os efeitos de uma única sessão de exercício sobre a resposta imunitária^{11,12}. Segundo Blannin *et al.*¹³, é provável que essas divergências sejam decorrentes da diversidade dos protocolos de exercício utilizado. Em alguns estudos com modelo animal, o exercício agudo e intenso¹⁴ e exercício prolongado¹⁵, tem resultado em resposta imunossupressora. Porém, Prestes *et al.*¹⁶ observaram leucocitose mesmo em exercício de baixa intensidade. Resultados similares foram observados por Guerreschi *et al.*¹⁷, porém observou-se melhora na resposta de monócitos. No entanto, nos estudos acima revisados, os protocolos de sobrecarga foram realizados por tempo e não por percentual da massa corporal, como proposto no presente trabalho.

Adicionalmente, as respostas leucocitárias decorrentes de fatores intervenientes do exercício podem ocorrer a nível funcional, por meio da proliferação linfocitária, fagocitose de neutrófilos e macrófagos, síntese de imunoglobulinas e de contagem dos leucócitos. Todavia, a imunossupressão pós-esforço está associada às alterações na contagem bem como na funcionalidade, primariamente dos linfócitos¹⁷.

Sendo assim, esse trabalho teve dois objetivos: i) investigar os efeitos da intensidade do exercício agudo no número de leucócitos circulantes em ratos Wistar; ii) erigir modelos matemáticos capazes de predizerem o número celular em função da concentração de lactato sanguíneo (mmol.l⁻¹).

Materiais e Métodos

Animais

Utilizaram-se 40 ratos machos Wistar com massa corporal entre 150 e 200g. Os animais foram alimentados com ração Labina (Purina, São Paulo, SP, Brasil) e água *ad libitum* sendo mantidos em caixas de polipropileno (3/caixa) com temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclo claro/escuro de 12 horas a partir das 6 horas. Os experimentos foram realizados em conformidade com a regulamentação para experimentos com animais.

Delineamento e Protocolo experimental

Trata-se de um delineamento experimental com pré e pós-testes. Os animais foram randomicamente alocados para os grupos controle ou experimentais com 0%, 5% ou 50% de carga proporcional à massa corporal. Os grupos experimentais com 0% (n = 10) e 5% (n = 10) foram adaptados por três dias ao meio líquido ($31 \pm 1^\circ\text{C}$). No primeiro, segundo e terceiro dias, os animais permaneceram por 15 min em tanque com nível de água em 15, 30 e 45 cm de altura, respectivamente. No segundo dia, realizaram 15 min de atividade com nível de água em 30 cm. No último dia, o nível foi elevado para 45 cm. Animais do grupo de 50% (n = 10) foram adaptados em aparato de vidro com 20 cm x 20 cm x 45 cm de profundidade. A escolha pelo método de adaptação deve-se a característica inerente a cada modelo de exercício, nas menores intensidades (0 e 5%) por apresentarem característica aeróbia, os animais suportariam maior período de atividade contínua. Porém, a intensidade mais elevada (50%), por apresentar característica anaeróbia, optou-se por um método de adaptação pertinente ao exercício ao qual os animais seriam testados.

Após fase adaptativa, os animais foram individualmente submetidos a uma única sessão de exercício com duração de 30 min, altura da coluna de água cerca de 45 cm e a carga ajustada conforme a designação do grupo. A seguir, realizaram-se dez séries com dez saltos/série, totalizando 100 saltos com um minuto de descanso entre elas. Em todos os exercícios, as cargas foram acopladas ao tórax do animal por meio de fita velcro. Os animais do grupo controle (n = 10) 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 pequena secção na extremidade apical da cauda, realizou-se a ordenha do sangue com a primeira gota desprezada. A seguir, 60µl de sangue foram pipetados em Eppendorfs heparinizado após o exercício nos tempos 0, 15, 30, 60 e 120 min. Para a determinação da concentração de lactato sanguíneo, 25µl foram pipetados em Eppendorfs contendo 50µl 1%NaF. O material foi congelado (- 20°C) para posterior

determinação das concentrações em analisador bioquímico (YSI Model 2700 SELECT, Yellow Springs, OH, USA).

Leucometria

Amostras de sangue foram diluídas 1:20 em solução de Türk e leucócitos contados em câmara de Neubauer *improved* com auxílio de microscopia óptica conforme procedimentos descritos por Rodgers e Young¹⁸.

Tabela 1. Médias (\pm desvios padrões) para o número de leucócitos, monócitos, linfócitos e neutrófilos circulantes (mm^3) após sessão de exercício agudo

	0 min	15 min	30 min	60 min	120 min
Leucócitos					
Controle	7,2 (\pm 1,0) [#]	6,6 (\pm 1,0) [#]	5,7 (\pm 1,1)	5,2 (\pm 1,0)	5,2 (\pm 0,9) [#]
0%	10,1 (\pm 1,5) [*]	8,3 (\pm 1,6) [*]	6,8 (\pm 1,5)	5,2 (\pm 1,0)	7,8 (\pm 1,5)
5%	11,7 (\pm 2,2) [*]	10,6 (\pm 2,0) [*]	7,1(\pm 1,7)	6,3 (\pm 1,1)	8,5 (\pm 1,3)
50%	13,8 (\pm 1,8) ^{**}	10,4 (\pm 2,1)	7,0 (\pm 1,5)	6,1 (\pm 1,1)	7,8 (\pm 1,2)
Monócitos					
Controle	3,0 (\pm 1,4)	4,7 (\pm 3,8) [‡]	5,0 (\pm 3,9) [#]	5,7 (\pm 3,7) [#]	4,2 (\pm 2,4) [#]
0%	3,7 (\pm 2,0) [*]	3,4 (\pm 3,3) ^{‡*}	1,8 (\pm 1,9)	2,4 (\pm 2,8)	2,1 (\pm 2,3)
5%	1,8 (\pm 0,9) [§]	1,3 (\pm 1,0)	2,1(\pm 1,2)	1,9 (\pm 2,1)	1,3 (\pm 1,1)
50%	2,5 (\pm 1,5) [•]	1,1 (\pm 1,4)	2,2 (\pm 1,9) [•]	0,1 (\pm 0,3) [†]	0,3 (\pm 0,6) [†]
Linfócitos					
Controle	80,0 (\pm 7,0) ^{**}	75,0 (\pm 8,9) [‡]	70,8 (\pm 13,4) [#]	69,1 (\pm 12,4) [#]	69,5 (\pm 7,7) [#]
0%	82,6 (\pm 5,4)	80,2 (\pm 7,3) [‡]	81,4 (\pm 5,9)	73,8 (\pm 7,0) [■]	76,1 (\pm 8,0) [■]
5%	81,1 (\pm 5,7)	84,5 (\pm 7,2)	79,4 (\pm 6,5)	75,0 (\pm 6,2) [◊]	79,4 (\pm 7,8)
50%	89,5 (\pm 12,9) [*]	87,8 (\pm 6,4) [*]	82,4 (\pm 6,3)	78,9 (\pm 9,05) [†]	76,7 (\pm 12,5)
Neutrófilos					
Controle	16,3 (\pm 5,3) [*]	19,6 (\pm 7,6) [*]	23,1 (\pm 10,0) [#]	23,8 (\pm 7,8)	23,6 (\pm 10,5)
0%	13,6 (\pm 5,2)	15,70 (\pm 7,9)	16,3 (\pm 5,5)	23,1 (\pm 7,2) [■]	21,4 (\pm 7,4) [■]
5%	16,7 (\pm 5,6) [*]	13,8 (\pm 7,0) [*]	18,2 (\pm 5,8)	21,8 (\pm 6,7)	18,8 (\pm 7,6)
50%	6,6 (\pm 3,6) ^{‡*}	10,5 (\pm 6,0) [*]	15,7 (\pm 7,2)	20,9 (\pm 9,1) [■]	22,7 (\pm 12,1) [■]

Nota. Testes de comparações múltiplas de Bonferroni revelaram diferenças significativas: [#]Controle versus 0%, 5% e 50% de carga ($P<0,001$), [•]0 versus 15min, 30min, 60min e 120min ($P<0,001$), [◊]0 e 15min versus 30min, 60min e 120min ($P<0,001$), [§]5% versus Controle, 0%, 5% e 50% de carga ($P=0,04$), [‡]Controle e 0% versus 5% e 50% de carga ($P=0,01$), ^{50%}50% versus controle, 0% e 5% de carga ($P=0,02$), ^{*}0 e 30min versus 15min, 60min e 120min ($P<0,001$), [■]60min e 120min versus 0, 15 e 30min ($P<0,01$), [◊]60min versus 0, 15min, 30min e 120min ($P<0,01$)

Análises Estatísticas

Realizou-se análise exploratória por meio de análise visual (distribuição dos dados e valores extremos). O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para examinar a normalidade das variáveis. Os dados foram representados como a média (\pm desvio-padrão). Análise de variância (Split-Plot) foi utilizada para investigar efeitos principais e de interação. Modelos de regressão foram erigidos com o propósito de descrever e prever o número de leucócitos em função da concentração de lactato

sanguíneo. Adotou-se o nível de significância ($\alpha < 0,05$).

As análises foram realizadas com o pacote estatístico SPSS versão 10.0.

Resultados

Os resultados da análise de variância revelaram efeitos principais significativos ($P<0,01$) para a concentração de lactato sanguíneo (mMol.L^{-1}) entre os grupos. O teste de comparação múltipla de Bonferroni evidenciou diferenças significativas ($p=0,001$) entre os

grupos controle ($1,6 \pm 0,6$) *versus* 0% ($2,4 \pm 0,8$), 5% ($2,5 \pm 0,7$) e 50% ($4,4 \pm 0,9$). Os resultados também indicaram efeitos de interação entre os fatores grupos *versus* tempo de medida (Greenhouse-Geisser, $P < 0,001$). Com respeito à contagem global e diferencial dos leucócitos, os resultados são exibidos na Tabela 1.

Simulações com modelos de regressão linear revelaram que a função polinomial cúbica é a que melhor prediz o número global e diferencial de leucócitos em função da concentração de lactato sanguíneo (Tabela 2). As equações de regressão representativas do modelo cúbico são ilustradas na Figura 1.

Tabela 2. Modelos de regressão e coeficientes de determinação (R^2) para a resposta de leucócitos monócitos, linfócitos e neutrófilos circulantes em função da concentração de lactato sanguíneo (mMol.L^{-1})

	Células Imunes			
	Leucócitos	Linfócitos	Neutrófilos	Monócitos
Linear Simples	0,77	0,66	0,43	0,26
Cúbico	0,91	0,90	0,81	0,46
Quadrático	0,89	0,86	0,74	0,41

Discussão

Esse trabalho teve por objetivo investigar os efeitos da intensidade do exercício no número de leucócitos circulantes e de erigir modelos matemático-estatísticos a fim de explicar essas respostas em modelo animal. Embora os mecanismos fisiológicos relacionados aos efeitos da concentração de lactato sanguíneo na resposta leucocitária sejam desconhecidos, os resultados dessa investigação sugerem que a intensidade do exercício é uma variável que modula o número de leucócitos circulantes. Por exemplo, observou-se que, imediatamente após a sessão de exercício, a contagem leucocitária elevou-se cerca de 92% em relação ao controle, conforme esperado após estimulação simpática em modelo animal¹⁹.

Resultado similar foi observado em relação aos linfócitos. De fato, este tipo celular representa a maior proporção em modelo animal²⁰. Entretanto, este perfil imunitário não reflete o comportamento das outras subpopulações. Neste sentido, verificou-se neutropenia acentuada (~41%), imediatamente após o exercício no grupo 50% em relação ao controle. Outro resultado de grande importância foi a progressiva monocitopenia dos grupos experimentais comparados ao controle, particularmente no grupo 50% com redução em cerca de oito vezes. Este resultado é contrário àqueles evidenciados em humanos²¹⁻²³, e também em modelo animal, em ratos Wistar submetidos a exercício leve¹⁷.

Monócitos constituem uma classe relativamente imatura de macrófagos presentes na circulação periférica ou marginadas ao endotélio vascular, fonte essa que representa até 70% de sua população²⁴. Portanto, é provável que em nosso estudo os protocolos de exercício utilizados tenham favorecido a migração deste tipo celular para outros órgãos/tecidos o que, deste modo, reduziu sua circulação em especial o grupo de 50%. Possivelmente, a acentuada neutropenia esteja associada aos efeitos imunossupressores decorrente de subjacentes processos inflamatórios agudos musculares e/ou teciduais, conferidos ao exercício de alta intensidade²⁵.

Em conjunto, os resultados do presente estudo são consoantes com o trabalho de Pedersen & Steensberg²⁶ que sugerem respostas estereotipadas para o número de leucócitos circulantes pós-sessão aguda de exercício. Ademais, é importante ressaltar que alterações na contagem celular podem não refletir as respostas funcionais. Por exemplo, resultados de estudos prévios sugerem que, embora o número de neutrófilos na circulação periférica seja transitoriamente reduzido, a função fagocítica e microbicida encontra-se incrementada²⁰. Em estudo com exercício leve e moderado, Guerreschi et al.¹⁷ observaram aumento da atividade fagocitária em ratos após exercício, mesmo em estado de leucocitose. À luz desses dados sugere-se cautela na interpretação dos efeitos do exercício na resposta imunitária.

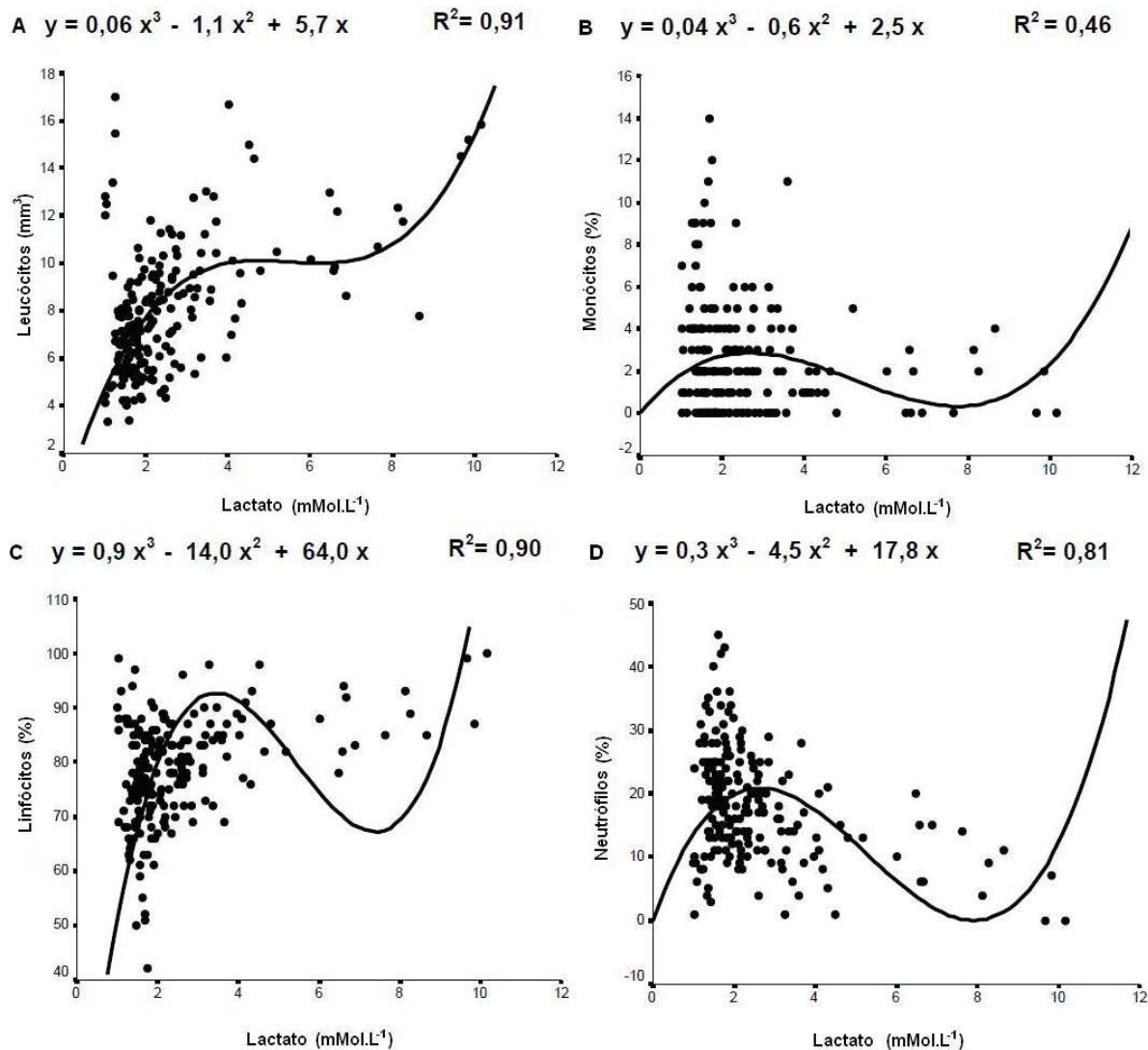


Figura 1. Modelo polinomial cúbico para predição do número de leucócitos (1A), monócitos (1B), linfócitos (1C) e neutrófilos (1D) circulantes em função da concentração de lactato sanguíneo (mmol.L^{-1})

Por outro lado, os resultados ampliam a concepção vigente no sentido de sugerir a utilidade de modelos matemáticos para a predição da resposta de subpopulações de leucócitos pós-exercício. Nesta linha, sugere-se que o modelo polinomial cúbico é o melhor a descrever e prever o número de leucócitos circulantes em função da concentração do lactato sanguíneo. Entretanto, há que se conceber que parte da variância não explicada pelos modelos matemático-estatísticos seja decorrência de fatores neuroendócrinos associados ao estresse físico – comportamental. Neste sentido, o aumento da concentração de catecolaminas e cortisol (corticosteróide em animais) pode estar associado à abrupta desmarginação de populações de leucócitos via redução na aderência ao endotélio vascular^{27,28}. De fato, a prática do exercício de alta intensidade é associada ao

aumento dos níveis de cortisol sanguíneo e a imunossupressão¹⁰. É provável que este mecanismo explique as reduções observadas no número de monócitos e neutrófilos para os grupos exercitados a 50%.

Sugerem-se que novos estudos investiguem a utilidade de modelos matemáticos para a predição de variáveis imunitárias em humanos. Técnicas de modelagem são úteis na prática desportiva como ferramenta para a prescrição e diagnóstico relativos aos efeitos do exercício sobre variáveis biológicas. Nesta linha de raciocínio, a estimativa da resposta imunológica ao treinamento físico pode contribuir para a predição do risco de imunossupressão e de infecções oportunistas em atletas²⁶. Dessa forma, subsidiam-se especialistas da área com informações de potenciais “janelas” favoráveis a infecções⁵ e sugere-se a utilização de estratégias

imunestimulatórias como a suplementação de carboidratos^{10,29-31} e glutamina^{32,33}. Ademais, o exercício físico com intensidade moderada tem sido prescrito como coadjuvante não medicamentosa para o tratamento de pacientes pós-quimioterápicos^{7,8}. É importante salientar que a prescrição com base na concentração de lactato sanguíneo é uma estratégia de baixo custo e de fácil operacionalização. Entre as principais limitações desse estudo, verifica-se a falta de medidas hormonais com interferência potencial sobre a resposta leucocitária. Ademais, os diferentes tipos de adaptação ao meio líquido também podem interferir na resposta leucocitária ao esforço físico. Face aos resultados obtidos, sugere-se significativa relação curvilínea entre a concentração de lactato sanguíneo e o número total e diferencial de leucócitos. O modelo polinomial cúbico é o que melhor explica a relação entre estas variáveis.

Referências

1. Ordóñez FJ, Fornieles-Gonzalez G, Camacho A, Rosety MA, Rosety I, Diaz AJ, et al. Anti-Inflammatory Effect of Exercise, via Reduced Leptin Levels, in Obese Women With Down Syndrome. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2013;23(3):239-44.
2. Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A, Fernando F, Cavallo S, Cardelli P, et al. Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010;20(8):608-17.
3. Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise: its role in diabetes and cardiovascular disease control. *Essays Biochem.* 2006;42:105-17.
4. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol.* 2005;98(4):1154-62.
5. Pedersen BK, Rohde T, Ostrowski K. Recovery of the immune system after exercise. *Acta Physiol Scand.* 1998;162(3):325-32.
6. Roberts CK, Ng C, Hama S, Eliseo AJ, Barnard RJ. Effect of a short-term diet and exercise intervention on inflammatory/anti-inflammatory properties of HDL in overweight/obese men with cardiovascular risk factors. *J Appl Physiol.* 2006;101(6):1727-32.
7. Hutnick NA, Williams NI, Kraemer WJ, Orsega-Smith E, Dixon RH, Bleznak AD, et al. Exercise and lymphocyte activation following chemotherapy for breast cancer. *Med Sci Sports Exerc.* 2005;37(11):1827-35.
8. Goh J, Kirk EA, Lee SX, Ladiges WC. Exercise, physical activity and breast cancer: the role of tumor-associated macrophages. *Exerc Immunol Rev.* 2012;18:158-76.
9. Prestes J, de Ferreira CKO, Dias R, Frollini AB, Donatto FF, Cury-Boaventura MF, et al. Lymphocyte and Cytokines after Short Periods of Exercise. *Int J Sports Med.* 2008;29(12):1010-1014.
10. Mendes EL, Brito CJ, Batista ES, Silva CHO, Paula SOd, Natali AJ. Influência da suplementação de carboidrato na função imune de judocas durante o treinamento; Influence of carbohydrate supplementation in the immune response of judoists during training. *Rev. Bras. Med. Esporte.* 2009;15(1):58-61.
11. Freidenreich DJ, Volek JS. Immune responses to resistance exercise. *Exerc Immunol Rev.* 2012;18:8-41.
12. Woods JA. Exercise and neuroendocrine modulation of macrophage function. *Int J Sports Med.* 2000;21 Suppl 1:S24-30.
13. Blannin A, 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, editor. *Immune function in sport and exercise.* Philadelphia: Elsevier; 2006.
14. Frollini AB, Prestes J, de Oliveira Ferreira CK, Donatto FF, Verlengia R, Palanch AC, et al. Efeito do exercício agudo de curta duração em leucócitos circulantes e linfócitos teciduais de ratos. *Rev Bras Educ Fis Esp.* 2007;21(3):229-43.
15. Prestes J, Ferreira CKO, Frollini AB, Dias R, Donatto FF, Guereschi MG, et al. Influência do exercício físico agudo realizado até a exaustão sobre o número de leucócitos, linfócitos e citocinas circulantes. *Fitness & Performance Journal.* 2007;6(1):32-37.
16. Prestes J, Frollini AB, Dias R, Guereschi MG, de Oliveira Ferreira CK, Donatto FF, et al. Influência do exercício físico em diferentes intensidades sobre o número de leucócitos, linfócitos e citocinas circulantes. *Revista Brasileira de Medicina.* 2008;65(3):56-60.
17. Guereschi MG, Prestes J, Donatto FF, Dias R, Frollini AB, Ferreira CK, et al. Exercise induced alterations in rat monocyte number, morphology, and function. *Int J Exerc Sci.* 2008;1(2):71-8.
18. Rodgers GP, Young NS. **Bethesda handbook of clinical hematology.** Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p. 512.
19. Kohut ML, Thompson JR, Lee W, Cunnick JE. Exercise training-induced adaptations of immune response are mediated by beta-adrenergic receptors in aged but not young mice. *J Appl Physiol.* 2004;96(4):1312-22.
20. Bombarda J, Melo JC, Souza ERd, Nóbrega OdT, Córdova C. Exercício abaixo do limiar anaeróbico aumenta as atividades fagocítica e microbicida de neutrófilos em ratos Wistar. *J Bras Patol Med Lab.* 2009;45(1):9-15.
21. McMurray RG, Zaldivar F, Galassetti P, Larson J, Eliakim A, Nemet D, et al. Cellular immunity and

- inflammatory mediator responses to intense exercise in overweight children and adolescents. **J Investig Med.** 2007;55(3):120-9.
22. Stefanović R, Lilić L, Mutavdžić V, Popović-Ilić T, Kocić J, Đindić N, et al. Characteristics of systemic inflammatory markers in athletes on intensive physical training program. **Acta medica Medianae.** 2009;48(4):50-4.
23. Timmerman KL, Flynn MG, Coen PM, Markofski MM, Pence BD. Exercise training-induced lowering of inflammatory (CD14+CD16+) monocytes: a role in the anti-inflammatory influence of exercise? **J Leukoc Biol.** 2008;84(5):1271-8.
24. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. **Cellular and molecular immunology.** Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
25. Kumae T, Ishii T, Osanai H, Ito T. Effects of summer training camp on serum opsonic activity and plasma cytokine levels in female long-distance runners. **Luminescence.** 2009;24(6):438-43.
26. Pedersen BK, Steensberg A. Exercise and hypoxia: effects on leukocytes and interleukin-6-shared mechanisms? **Med Sci Sports Exerc.** 2002;34(12):2004-13.
27. Dias R, Frollini AB, Prestes J, Ferreira CKdO, Donatto FF, Verlengia R, et al. Efeito do exercício agudo de curta duração em leucócitos circulantes e linfócitos teciduais de ratos. **Rev. Bras. Educ. Fís. Esp.** 2007;21(3):229-43.
28. Sakayama K, Mashima N, Kidani T, Miyazaki T, Yamamoto H, Masuno H. Effect of cortisol on cell proliferation and the expression of lipoprotein lipase and vascular endothelial growth factor in a human osteosarcoma cell line. **Cancer Chemother Pharmacol.** 2008;61(3):471-9.
29. Green KJ, Croaker SJ, Rowbottom DG. Carbohydrate supplementation and exercise-induced changes in T-lymphocyte function. **J Appl Physiol.** 2003;95(3):1216-23.
30. Murphy EA, Davis JM, Carmichael MD, Mayer EP, Ghaffar A. Benefits of oat beta-glucan and sucrose feedings on infection and macrophage antiviral resistance following exercise stress. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** 2009;297(4):R1188-94.
31. Brito CJ, Gatti K, Mendes EL, Nóbrega OT, Córdova C, Marins JCB, et al. Carbohydrate intake and immunosuppression during judo training. **Med Sport.** 2011;64(4):393-408.
32. Cruzat VF, Rogero MM, Tirapegui J. Effects of supplementation with free glutamine and the dipeptide alanyl-glutamine on parameters of muscle damage and inflammation in rats submitted to prolonged exercise. **Cell Biochem Funct.** 2010;28(1):24-30.
33. dos Santos RV, Caperuto EC, de Mello MT, Costa Rosa LF. Effect of exercise on glutamine metabolism in macrophages of trained rats. **Eur J Appl Physiol.** 2009;107(3):309-15.