

Efeito do exercício agudo de curta duração em leucócitos circulantes e linfócitos teciduais de ratos

CDD. 20.ed. 796.022

Rodrigo DIAS*
Anelena Bueno FROLLINI*
Jonato PRESTES**
Clílton Kraüss de Oliveira FERREIRA*
Felipe Fedrizzi DONATTO*
Rozangela VERLENGIA*
Adrienne Christine PALANCH*
Cláudia Regina CAVAGLIERI*

*Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Metodista de Piracicaba.
**Laboratório de Fisiologia do Exercício, Universidade Federal de São Carlos.

Resumo

Sessões agudas promovem respostas no sistema imunológico, podendo acarretar desistência, não continuidade ou queda no desempenho nos programas de exercícios, pela aumentada susceptibilidade às infecções das vias aéreas superiores (IVASs). Considerando que os linfócitos desempenham funções no combate às infecções e que indivíduos sedentários com baixo nível de aptidão física, devam iniciar programas de treinamento com baixo volume e intensidade, o estudo teve como objetivo avaliar a contagem de leucócitos e linfócitos circulantes e dos linfócitos teciduais mesentéricos, bem como a capacidade proliferativa dos linfócitos teciduais em ratos machos "Wistar" submetidos a sessões agudas de cinco e 15 minutos nas intensidades leve e moderada. Os resultados mostram leucocitose e linfocitose nos grupos cinco e 15 minutos em ambas as intensidades, aumentada contagem de linfócitos teciduais nos grupos cinco minutos leve bem como cinco e 15 minutos moderado, de forma geral, nenhuma alteração na resposta proliferativa celular T, porém com diminuição na resposta celular B nos grupos cinco e 15 minutos leve e cinco minutos moderado. A relevância e o significado clínico dessas alterações precisam ser mais bem esclarecidos para o melhor entendimento da complexa tríade: exercício físico, respostas imunológicas e susceptibilidade a infecções, após sessões submáximas de curta duração.

UNITERMOS: Exercício físico agudo; Sistema imunológico adquirido; Linfócitos circulantes; Linfócitos teciduais; Redistribuição celular; Resposta proliferativa.

Introdução

O exercício físico regular é geralmente considerado fator implicante no estado de saúde, incluindo redução da massa corporal, pressão arterial e melhoria nos níveis glicêmicos (MACKINNON, 1997). Indivíduos que se engajam em programas de exercícios, mesmo que visando apenas melhoria da qualidade de vida, também necessitam estar em consonância com um quadro positivo do sistema imunológico. Um fator a se considerar como possibilitador de desistência, não continuidade ou queda no desempenho nos

programas de treinamento, é o quadro imune dos indivíduos, podendo este, ser influenciado por sessões agudas de exercícios.

Estudos demonstram evidências de que exercícios em intensidades e volumes moderados, executados regularmente, estão associados com diminuições na susceptibilidade às infecções, principalmente das vias aéreas superiores (IVASs) (NIEMAN & BISHOP, 2006; NIEMAN, HENSON, AUSTIN & BROWN, 2005; NIEMAN & PEDERSEN, 1999; PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000; PEDERSEN, ROHDE & OSTROWSKI,

1998). Paradoxalmente, exercícios exaustivos, podem induzir um quadro imunossupressivo transitório, com aumentada susceptibilidade às IVASs (NIEMAN & BISHOP, 2006; NIEMAN & PEDERSEN, 1999; PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000; PEDERSEN, ROHDE & OSTROWSKI, 1998).

Tipicamente durante exercícios intensos ou moderados instalam-se os quadros denominados leucocitose e linfocitose (DOHI, KRAEMER & MASTRO, 2003; FERREIRA, PRESTES, DONATTO, VIEIRA, PALANCH & CAVAGLIERI, 2000a; FU, QIN, LEUNG, CHAN & CHAN, 2003; GREEN, ROWBOTTOM & MACKINNON, 2002; KAUFMAN, HARRIS, HIGGINS & MAISEL, 1994; NIEMAN et al., 2005; PRESTES, FERREIRA, FROLLINI, DIAS, DONATTO, GUERESCHI, PALANCH, PEREZ & CAVAGLIERI, 2007; RONSEN, PEDERSEN, ORITSLAND, BAHR & KJELDSSEN-KRAGH, 2001; SU, CHEN & JEN, 2001). A liberação de catecolaminas provocada pelo exercício é tida como fator mais cogitado para a indução da leucocitose e linfocitose (ARLT & HEWISON, 2004; BAIN, PHILLIPS, THOMSON, RICHARDSON & GABRIEL, 2000; KAUFMAN et al., 1994; MILLS, REHMAN, ZIEGLER, CARTER, DIMSDALE & MAISEL, 1999; MINETO, RAINOLDI, GAZZONI, TERZOLO, BORRIONE, TERMINE, SABA, DOVIO, ANGELI, PACCOTTI, 2005; PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000; RONSEN, BORSHEIM, PEDERSEN, HAUG, KJELDSSEN-KRGAH & HOSTMARK, 2004) provocando o recrutamento de células dos órgãos linfóides secundários como baço e linfonodos para a circulação geral (GABRIEL & KINDERMANN, 1998; KAUFMAN et al., 1994; NIELSEN, SECHER, KRISTENSEN, CHRISTENSEN, ESPERSEN & PEDERSEN, 1997).

Porém, após exercícios intensos ou prolongados, a contagem de linfócitos circulantes pode estar abaixo dos níveis basais, quadro este denominado de linfopenia (GREEN, ROWBOTTOM & MACKINNON, 2002; MOOREN, LECHTERMANN & VÖLKER, 2004; PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000; PEDERSEN, ROHDE & OSTROWSKI, 1998; PEDERSEN & TOFT, 2000; RONSEN et al., 2001). Esta é atribuída como um dos fatores responsáveis pela instalação de um quadro imunossupressivo transitório, denominado de "janela aberta", onde o organismo está mais susceptível aos antígenos, sendo bastante racional a associação entre tais alterações fisiológicas provocadas no sistema imune após sessões exaustivas e a aumentada susceptibilidade às IVASs (NIEMAN & PEDERSEN, 1999; PEDERSEN, ROHDE & OSTROWSKI, 1998). Em geral, de quatro a seis horas após o término do exercício físico ou após 24 horas de repouso, a contagem dos linfócitos volta

aos níveis basais (MEYER, FAUDE, URHAUSEN, SCHARHAG & KINDERMANN, 2004; PEDERSEN, ROHDE & OSTROWSKI, 1998; RONSEN et al., 2001), porém sessões de exercícios em intensidade moderada com curtos períodos de duração, não demonstram provocar declínio na contagem linfocitária no pós-exercício (PEDERSEN, ROHDE & OSTROWSKI, 1998).

GREEN, ROWBOTTOM e MACKINNON (2002) relatam que o exercício sob condições agudas pode alterar a contagem, redistribuição, como também a capacidade funcional celular. Essa linfopenia transitória pode estar associada com alterações na resposta imune, podendo ser conseqüência direta da redistribuição, apoptose e capacidade proliferativa linfocitária reduzida, após as sessões de exercícios. Estudos que avaliaram a mitogênese linfocitária têm apresentado resultados conflitantes com nenhuma alteração (GREEN, CROAKER & ROWBOTTOM, 2003; MENEGUELLO & COSTA ROSA, 2002; NIELSEN & PEDERSEN, 1997; PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000), aumento (NIELSEN & PEDERSEN, 1997; NIEMAN et al., 2005; PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000) e diminuição (GREEN & ROWBOTTOM, 2003; HOFFMAN-GOETZ, 1999; KOYAMA, KAYA, TSUJITA & HORI, 1998; MENEGUELLO & COSTA ROSA, 2002; PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000).

Considerando que os linfócitos desempenham funções importantes na resistência às IVASs, que essas células podem ser recrutadas dos órgãos linfóides para a circulação geral e que indivíduos com baixo nível de aptidão física, como em situações de pós-cirurgia, neoplasias severas ou portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (HIV), devam iniciar programas de treinamento com baixo volume e intensidade, investigamos as respostas imunológicas ao exercício para uma melhor adequação das sobrecargas de treinamento físico as populações citadas.

Estudos que avaliaram as modulações imunológicas decorrentes de exercícios de curta duração são escassos, se restringindo a avaliar o número e apoptose leucocitária em corredores (TUAN, HSU, FONG, HSU, TSAI, LEE & KONG, 2008); número e fagocitose de macrófagos em ratos (FERREIRA et al., 2007a) assim como número, fagocitose e apoptose de neutrófilos similarmente em ratos (FERREIRA, PRESTES, FROLLINI, DONATTO, DIAS, GUERESCHI, BRAMBILLA, BOAVENTURA, PITHON-CURI, CURI, VERLENGIA, PALANCH & CAVAGLIERI, 2007b).

Devido à exigüidade de trabalhos que investigaram o efeito do exercício de curta duração sobre o sistema imune, o objetivo deste estudo foi avaliar a

redistribuição de linfócitos circulantes e teciduais mesentéricos, assim como a mitogênese de linfócitos teciduais após sessões agudas de curta duração em intensidades submáximas. Tais variáveis podem

fornecer subsídios para o melhor entendimento da relevância e significado clínico dessas alterações no quadro imune e a possível relação com o aumento na susceptibilidade às IVASs.

Materiais e métodos

Reagentes

Foram utilizados os corantes Turkey, May Grunwald, Giemsa e Triplan Blue (Sigma, St. Louis, MO, USA); os agentes mitogênicos Concanavalin A (ConA) e Lipopolyccharide (LPS) (Sigma, St. Louis, MO, USA); meio de cultura RPMI-1640 (Cultilab, Campinas, SP, BRA) e soro fetal bovino (Soriali, Campo Grande, MS, BRA).

Animais

Todo o experimento foi conduzido de acordo com a política para pesquisas com animais experimentais do American College of Sports Medicine e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo utilizado como modelo ratos machos da linhagem “Wistar” (“Rathus norvegicus var”, “albinus”, “Rodentia”, “Mamalia”), adultos com dois meses de idade, apresentando peso médio de 200 g, obtidos do biotério central da Universidade Metodista de Piracicaba. Os animais receberam água e alimentação “ad libitum”, sendo mantidos em gaiolas coletivas com três animais por gaiola, em ambiente com temperatura constante de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo invertido claro/escuro de 12/12 horas com início do período claro a partir das seis horas. Antes de iniciar o protocolo experimental, os animais permaneceram por 48 horas em adaptação às condições do biotério de pesquisa. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (no. protocolo: 017/2006).

Grupos experimentais

Os animais utilizados eram todos sedentários, sendo divididos em três grupos ($n = 6$ por grupo): a) grupo controle - não exercitado (sigla Con); b) grupos exercitados agudamente na intensidade leve pelos períodos de cinco e 15 minutos (respectivas siglas AgL5 e AgL15); e c) grupos exercitados agudamente na intensidade moderada pelos mesmos períodos

(respectivas siglas AgM5 e AgM15). É definida como sessão aguda de exercício, quando não há qualquer tipo de adaptação frente ao exercício; assim os animais dos grupos exercitados nunca haviam tido contato com a água até a realização das sessões de natação, não sendo realizada adaptação ao meio.

Exercício físico

O modelo de exercício escolhido foi à natação, realizado em um tanque com água mantida em temperatura controlada de $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Os animais dos respectivos grupos exercitados se exercitaram apenas por uma sessão. Os animais que se exercitaram na intensidade leve não usaram cargas adicionais; já os animais que se exercitaram na intensidade moderada, realizaram as sessões de exercícios com uma carga equivalente a 5% do peso corporal dos respectivos animais acoplada ao dorso dos mesmos, a qual corresponde a uma intensidade abaixo do limiar anaeróbio (VOLTARELLI, GOBETTO & MELLO, 2002).

Análise das variáveis

Os animais dos grupos experimentais foram submetidos separadamente ao exercício e mortos por decapitação três a quatro minutos após o final das sessões estipuladas, ao passo que, os animais do grupo controle foram decapitados na situação basal para a análise das variáveis, sendo que, a coleta de sangue e tecidos se deu sempre no mesmo período da tarde entre 14 e 17 horas. Este procedimento foi realizado com o intuito de submeter os animais a mesma influência do ritmo circadiano hormonal, minimizando possíveis alterações fisiológicas de coletas realizadas em momentos diferentes do dia.

Contagem de leucócitos circulantes

Após a coleta do sangue em tubo de vidro com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (100 μl para 3,5 ml de sangue) uma alíquota de 10 μl do

sangue foi retirada, colocada em “eppendorf” sendo então acrescentado 190 µl do corante Turkey; com pipeta o tubo foi homogeneizado, sendo em seguida preenchida a Câmara de Neubauer; e feita à contagem total dos leucócitos no Microscópio Óptico de Luz; sendo os resultados expressos em número de células x 10⁶ cel/ml (células/mililitro), seguindo as descrições de (DORNFEST, LAPIN, NAUGHTON, ADU, KORN & GORDON, 1986).

Contagem de linfócitos circulantes

Após a coleta do sangue em tubo de vidro com EDTA (100 µl para 3,5 ml de sangue) uma alíquota de 7,5 µl do sangue foi retirada e colocada sobre uma lâmina de vidro; com uma lâmina extensora a gota de sangue foi pressionada com ângulo de 45° em relação à outra extremidade da lâmina em velocidade constante, caracterizando o esfregaço; em seguida, a lâmina foi seca a temperatura ambiente por dois a três minutos sendo precedida a coloração com 3 ml de corantes May Grunwald e Giemsa; após quatro minutos, foi colocado 5 ml de água destilada em cima da lâmina e dois minutos foram esperados; em seguida a lâmina foi lavada em água corrente, deixando-a inclinada para secar em temperatura ambiente; após a secagem a leitura do leucograma diferencial foi realizada em objetiva de imersão com óleo de imersão em Microscópio Óptico de Luz e aparelho LEUCOTRON TP; o resultado expressa o número relativo de linfócitos circulantes; sendo a partir do número relativo, obtido o número absoluto com os resultados expressos em número de células x 10⁶ cel/ml (Cálculo: $CRLeuC \times CALinC = CALeuC \times CRLinC$ onde: $CRLeuC$ = contagem relativa total de leucócitos circulantes sendo a constante de 100%, $CALeuC$ = contagem absoluta total de leucócitos circulantes contados na Câmara de Neubauer, $CALinC$ = contagem absoluta de linfócitos circulantes a se descobrir e $CRLinC$ = contagem relativa de linfócitos circulantes obtido na contagem do leucograma diferencial). Essa metodologia foi realizada acompanhando as especificações propostas por (DORNFEST et al., 1986).

Contagem de linfócitos teciduais mesentéricos

Depois de localizados os linfonódos mesentéricos, o tecido ganglionar linfóide foi separado do tecido gorduroso com auxílio de material cirúrgico; em seguida o tecido ganglionar linfóide

foi comprimido por um sistema de malhas de aço em um tubo “falcon” contendo 10 ml de meio de cultura RPMI-1640; depois de realizada a filtragem das células em papel de filtro, imediatamente as mesmas foram centrifugadas por quatro minutos a 2000 rotações por minuto, formando-se o “pelet”; o sobrenadante foi descartado e ressuspenso novamente em 10 ml de meio RPMI-1640 com agitador; em seguida foi coletado 100 µl da amostra e colocada em um “eppendorf” com 900 µl de meio RPMI-1640; posteriormente foi coletado 100 µl dessa amostra colocando em novo eppendorf com 100 µl de corante Triplan Blue; com pipeta o tubo foi homogeneizado sendo em seguida preenchida a Câmara de Neubauer, realizando-se a contagem do número total de linfócitos mesentéricos em Microscópio Óptico de Luz; sendo os resultados expressos em número de células x 10⁶ cel/ml, seguindo as descrições de (SERRANO, CURI, PARRY-BILLINGS, WILLIAMS & NEWSHOLME, 1993), sendo a viabilidade celular (> 95%), já previamente determinada por exclusão de Triplan Blue (OTTON, MENDONÇA & CURI, 2002; PIRES, CURI & OTTON, 2007).

Preparo da cultura dos linfócitos teciduais mesentéricos

Após a contagem dos linfócitos teciduais mesentéricos, foi realizado o cálculo para diluição (Cálculo: $CALinM \times V1 = CAInM \times V2$ onde: $CALinM$ = contagem absoluta do número total de linfócitos mesentéricos contados na Câmara de Neubauer, $CAInM$ = contagem absoluta inicial de linfócitos mesentéricos que deve conter a solução de cada “well” da placa de cultura, sendo uma constante de 1×10^6 células para cada respectivo “well” referente a cada animal na placa de cultura, $V1$ = volume que deve-se coletar da solução de células do tubo “falcon” para o plaqueamento nos referidos “wells” e $V2$ = volume constante de 2 ml que deverá conter cada “well” das referidas placas de cultura); após o cálculo da diluição, adicionou-se o valor de $V1$ no “well” da placa referente a cada animal, completando-se os “wells” com a quantidade necessária de meio de cultura RPMI-1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino e antibiótico estreptomicina na concentração de 2,5 µg/ml, acrescido ou não dos mitógenos ConA (utilizado para avaliar a funcionalidade dos linfócitos T) e LPS (utilizado para avaliar a funcionalidade dos linfócitos B) nas respectivas concentrações de 5 e 25 µg/ml diluídos em meio RPMI-1640 acrescido

de 10% de soro fetal bovino até atingir 2 ml em cada “well”; após o preparo das placas, as mesmas foram incubadas em estufa ajustada para uma atmosfera com concentração de 5% de CO₂ a uma temperatura controlada de 37 °C. Essa metodologia foi realizada acompanhando as especificações propostas por (CAVAGLIERI, NISHIYAMA, FERNANDES, CURI, MILES & CALDER, 2003).

Curva de proliferação dos linfócitos teciduais mesentéricos

As amostras foram coletadas 24 h, 36 h, 48 h, 72 h e 96 h (respectivas siglas T24h, T36h, T48h, T72h e T96h) seguinte ao plaqueamento inicial com a constante de 1×10^6 células (sigla Ti), sendo que após a retirada das alíquotas referente a cada tempo de coleta, as placas foram novamente incubadas na estufa de CO₂ para as posteriores coletas; para cada tempo foi coletada uma alíquota de 50 µl de cada amostra, que foi colocada em “ependorf” contendo 50 µl de corante Tripán Blue; com pipeta o tubo foi homogeneizado sendo em seguida preenchida a Câmara de Neubauer,

realizando-se a contagem do número total de linfócitos mesentéricos em Microscópio Óptico de Luz; sendo os resultados expressos em número de células $\times 10^6$ cel/ml.

Tratamento estatístico

A análise estatística foi realizada inicialmente pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk e pelo teste de homocedasticidade (critério de Bartlett). Todas as variáveis apresentaram distribuição normal e homocedasticidade, sendo utilizado o teste para análise de variância Anova “two way” (levando-se em consideração as variáveis intervenientes: intensidade \times duração) e quando a diferença apresentada era estatisticamente significativa, aplicou-se o teste paramétrico de Tukey para as comparações múltiplas. Foi fixado um nível crítico de 5% com resultados expressos pela média \pm erro padrão da média. Foi realizada a comparação dos grupos exercitados com o controle, assim como entre os grupos com mesmo volume, porém com diferentes intensidades. O “software” utilizado para o tratamento dos dados foi o Statistica® 6.1.

Resultados

Contagem dos leucócitos circulantes

A contagem absoluta dos leucócitos circulantes apresentou aumentos estatisticamente significantes nos grupos AgL5 (110,39%), AgL15 (130,18%), AgM5 (207,04%) e AgM15 (181,76%) em relação ao Con (*); quando realizada a comparação entre grupos, aumento no grupo AgM5 (45,93%) em relação ao AgL5 (Φ) e no grupo AgM15 (22,41%) em relação ao AgL15 (Ψ) (FIGURA 1A).

Contagem dos linfócitos circulantes

A contagem relativa dos linfócitos circulantes apresentou diminuição estatisticamente significativa no grupo AgL5 (6,22%); aumentos nos grupos AgL15 (15,03%) e AgM5 (14,77%) e nenhuma alteração no AgM15 em relação ao Con (*); quando realizada a comparação entre grupos, aumento no grupo AgM5 (22,38%) em relação ao AgL5 (Φ) e diminuição no grupo AgM15 (10,36%) em relação ao AgL15 (Ψ)

(FIGURA 1B). Quanto à contagem absoluta, aumentos estatisticamente significantes nos grupos AgL5 (97,36%), AgL15 (164,91%), AgM5 (252,45%) e AgM15 (190,57%) em relação ao Con (*); quando realizada a comparação entre grupos, aumento no grupo AgM5 (78,58%) em relação ao AgL5 (Φ) e nenhuma alteração no grupo AgM15 em relação ao AgL15 (FIGURA 1C).

Contagem dos linfócitos teciduais mesentéricos

A contagem absoluta dos linfócitos teciduais mesentéricos apresentou aumentos estatisticamente significantes nos grupos AgL5 (31,79%), AgM5 (28,13%) e AgM15 (45,43%) e nenhuma alteração no AgL15 em relação ao Con (*); quando realizada a comparação entre grupos, aumento no grupo AgM15 (44,74%) em relação ao AgL15 (Ψ) e nenhuma alteração no grupo AgM5 em relação ao AgL5 (FIGURA 1D).

Curva de proliferação dos linfócitos teciduais mesentéricos

Quando realizada a comparação dos grupos AgL5, AgL15, AgM5 e AgM15 em relação ao Con estimulados com ConA, os resultados apontaram para nenhuma alteração estatisticamente significativa na proliferação dos linfócitos teciduais mesentéricos (FIGURA 2A, 2B, 2C e 2D). Na comparação dos grupos AgL5, AgL15,

AgM5 e AgM15 em relação ao Con estimulados com LPS, os resultados apontaram para diminuições estatisticamente significativas nas amostras T48h (23,13%) (ϕ), T72h (24,78%) (λ) e T96h (43,87%) (Ω) para o grupo AgL5 (FIGURA 3A); na amostra T96h (30,86%) (Ω) para o AgL15 (FIGURA 3B); nas amostras T72h (26,14%) (λ) e T96h (30,86%) (Ω) para o AgM5 (FIGURA 3C); e nenhuma alteração nas amostras do grupo AgM15 (FIGURA 3D).

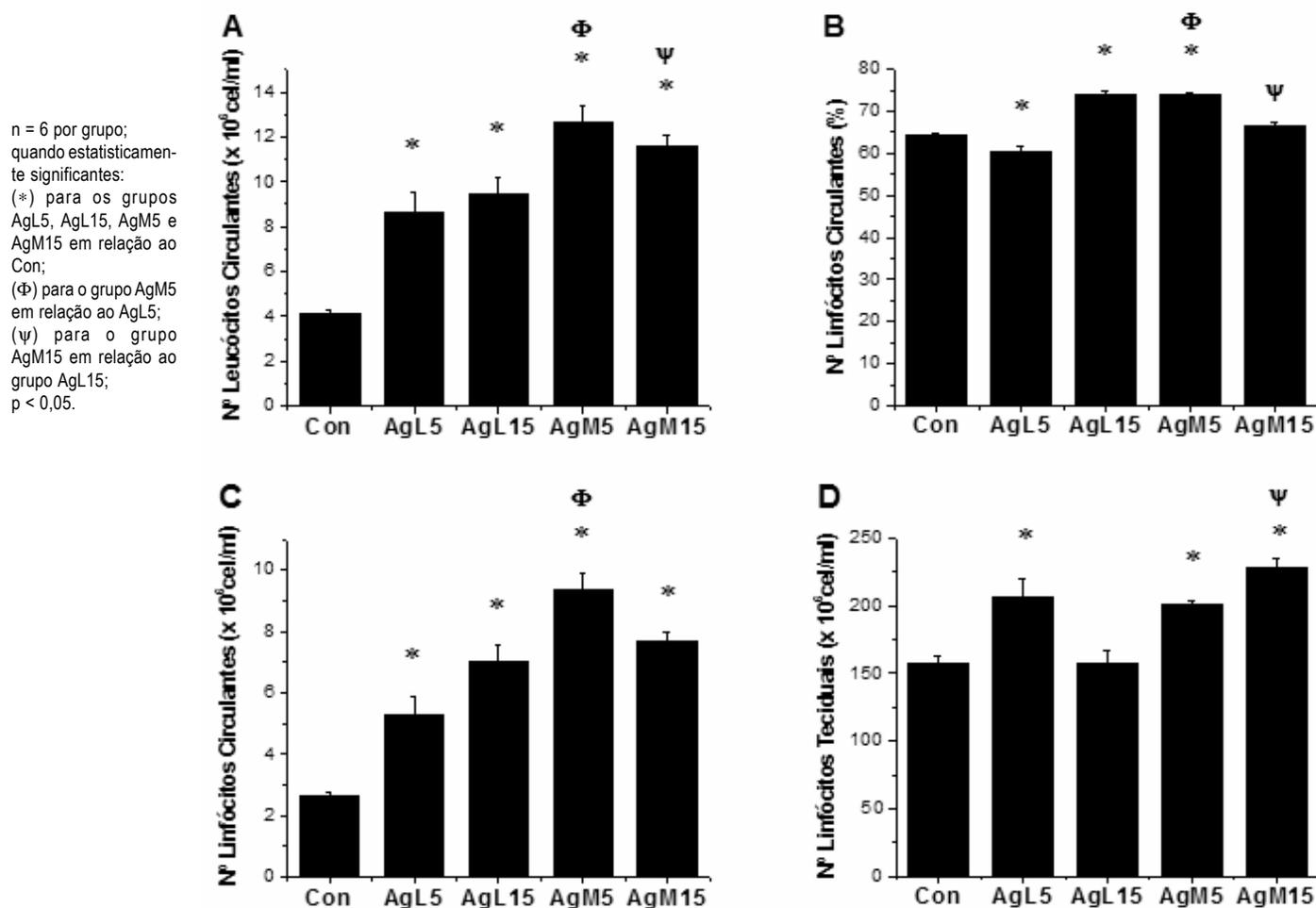


FIGURA 1 - Valores expressos pela média \pm erro padrão da média; número absoluto de leucócitos circulantes (A), número relativo de linfócitos circulantes (B), número absoluto de linfócitos circulantes (C), número absoluto de linfócitos teciduais mesentéricos (D); nos grupos Controle (Con), Agudo Leve 5 minutos (AgL5), Agudo Leve 15 minutos (AgL15), Agudo Moderado 5 minutos (AgM5) e Agudo Moderado 15 minutos (AgM15).

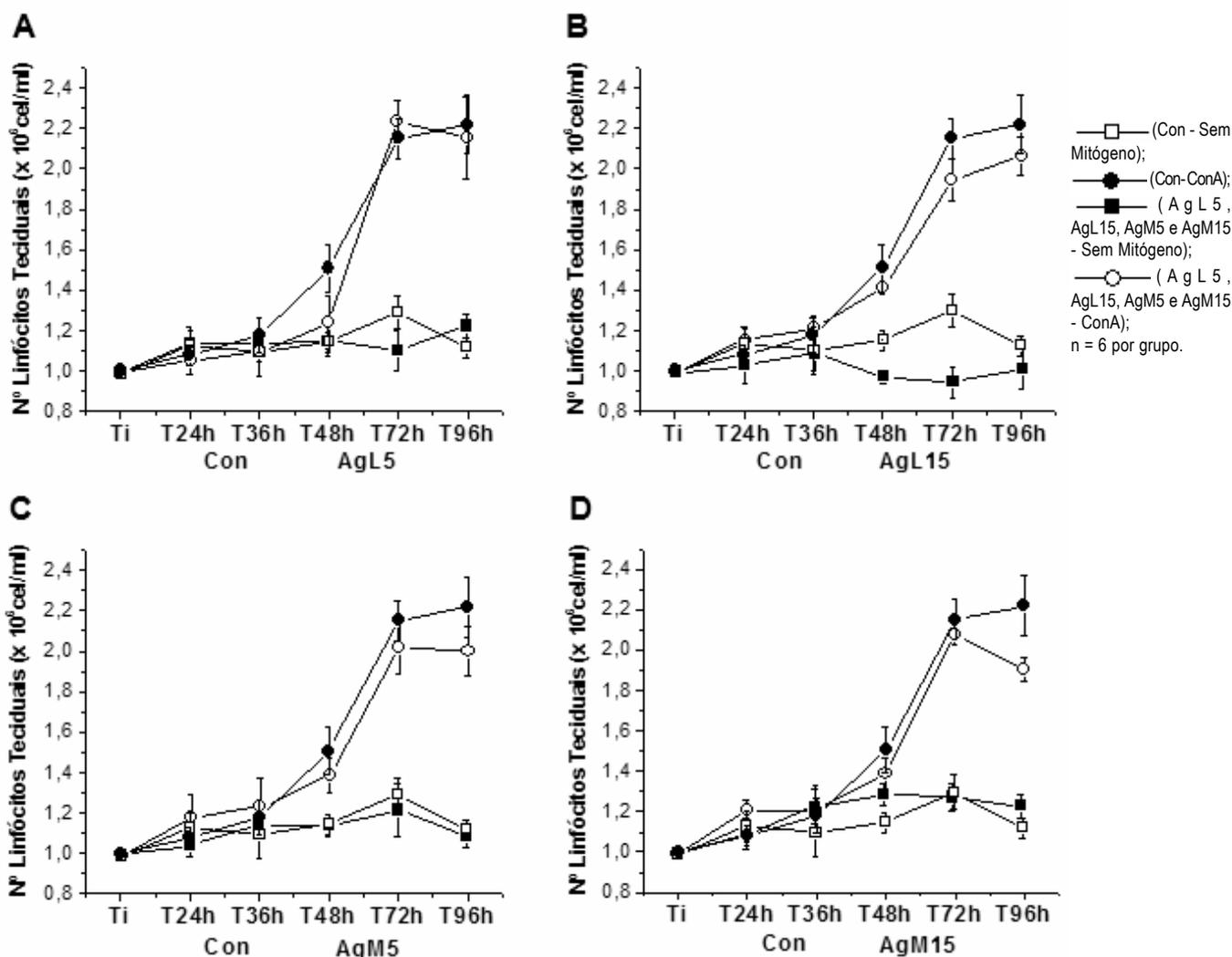


FIGURA 2 - Valores expressos pela média \pm erro padrão da média; curva de proliferação dos linfócitos teciduais mesentéricos dos grupos controle e exercitados, das amostras avaliadas nos períodos: imediatamente (Ti), 24 h (T24h), 36 h (T36h), 48 h (T48h), 72 h (T72h) e 96 h (T96h) após o plaqueamento; dos grupos Controle (Con) e Agudo Leve 5 minutos (AgL5) (A), Controle (Con) e Agudo Leve 15 minutos (AgL15) (B), Controle (Con) e Agudo Moderado 5 minutos (AgM5) (C), Controle (Con) e Agudo Moderado 15 minutos (AgM15) (D).

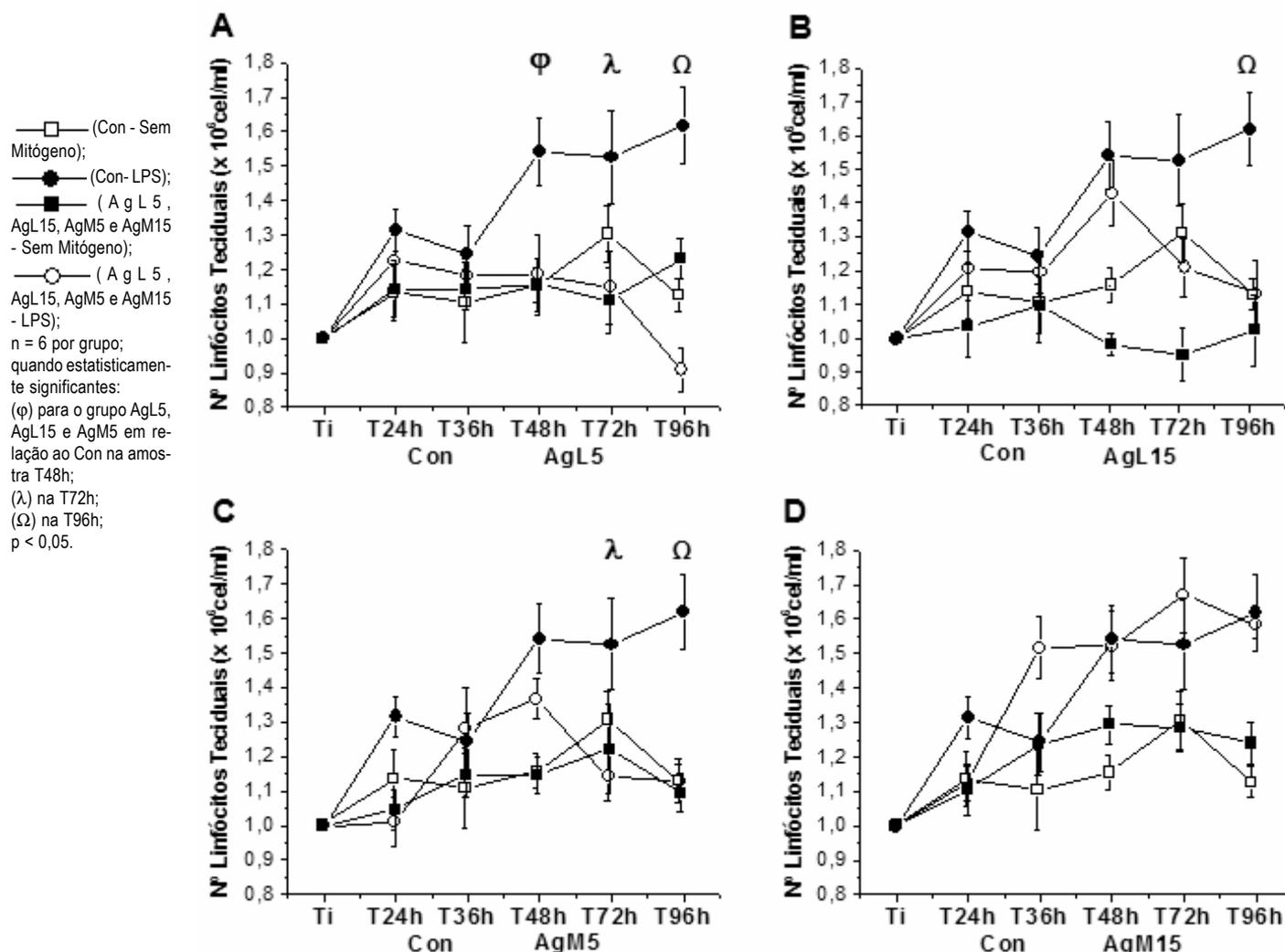


FIGURA 3 - Valores expressos pela média \pm erro padrão da média; curva de proliferação dos linfócitos teciduais mesentéricos dos grupos controle e exercitados, das amostras avaliadas nos períodos: imediatamente (Ti), 24 h (T24h), 36 h (T36h), 48 h (T48h), 72 h (T72h) e 96 h (T96h) após o plaqueamento; dos grupos Controle (Con) e Agudo Leve 5 minutos (AgL5) (A), Controle (Con) e Agudo Leve 15 minutos (AgL15) (B), Controle (Con) e Agudo Moderado 5 minutos (AgM5) (C), Controle (Con) e Agudo Moderado 15 minutos (AgM15) (D).

Discussão

De forma geral, o protocolo de exercício físico agudo utilizado no presente estudo, realizado em intensidades submáximas, mesmo que por curtos períodos de até 15 minutos, induziu leucocitose e linfocitose nos grupos Agudos cinco e 15 minutos em ambas as intensidades (FIGURA 1A e 1C), porém quanto aos linfócitos teciduais mesentéricos, observamos aumento apenas nos grupos Agudos cinco minutos leve, cinco e 15 minutos moderado (FIGURA 1D). Quanto à capacidade proliferativa dos linfócitos teciduais, nenhuma alteração foi

observada na funcionalidade celular T (FIGURA 2A, 2B, 2C e 2D). No entanto, foram detectadas diminuições na capacidade proliferativa dos linfócitos B para os grupos Agudos cinco minutos em ambas as intensidades e 15 minutos leve (FIGURA 3A, 3B e 3C) com nenhuma alteração para o grupo 15 minutos moderado (FIGURA 3D).

Apesar de PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ (2000) salientarem que sessões de exercícios regulares em intensidades submáximas podem não alterar a contagem de linfócitos, esse fato não foi observado

no presente estudo, possivelmente pela característica aguda das sessões, e pela ausência de adaptação ao meio, apesar do curto período e intensidades submáximas das mesmas, justificando o aumento na contagem dos linfócitos circulantes (FIGURA 1B e 1C). Aumentos nas contagens dos linfócitos, similarmente foram encontrados em ratos, tanto após protocolo agudo de natação em intensidade moderada até a exaustão, chegando até a 10 horas de exercício contínuo (KAUFMAN et al., 1994; PRESTES et al., 2007), como depois de protocolo agudo de corrida em esteira por 30 minutos em intensidade moderada a 60% do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx.}$) (SU, CHEN & JEN, 2001); assim como em mulheres adultas após 30 minutos de caminhada, similarmente a 60% do $VO_{2máx.}$ porém já adaptadas ao exercício em questão (NIEMAN et al., 2005).

Ainda, os estudos que avaliaram a redistribuição de leucócitos e linfócitos utilizando-se de modelos animais perfizeram programas de treinamento durando semanas (FU et al., 2003; GONÇALVES & LUCIANO, 1999; KAUFMAN et al., 1994; ROGATTO & LUCIANO, 2002), sendo que quando se utilizaram sessões agudas de exercícios, as pesquisas apresentaram uma variação no volume de 30 minutos até a exaustão, chegando a até 10 horas de exercício ininterrupto (FU et al., 2003; KAUFMAN et al., 1994; PRESTES et al., 2007; SU, CHEN & JEN, 2001), contrastando com o protocolo do presente estudo, realizado em intensidades submáximas e curta duração de até 15 minutos.

Assim torna-se difícil à comparação dos resultados encontrados na literatura com os do presente estudo, pela discrepância na duração dos protocolos. Apesar das sessões terem sido realizadas em intensidades submáximas, como já mencionado, as mesmas foram agudas, o que pode estar relacionado com aumentada liberação de catecolaminas, induzindo maior mobilização leucocitária dos tecidos para o sangue (PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000). KAUFMAN et al. (1994) e GALBO, RICHTER, HOLST e CHRISTENSEN (1977) mostraram que animais sedentários em comparação aos treinados por quatro e 12 semanas, apresentaram maior liberação de adrenalina e leucocitose.

A relação diretamente proporcional entre liberação de catecolaminas e leucocitose, similarmente tem sido observada em estudos realizados com seres humanos (ARLT & HEWISON, 2004; BAIN et al., 2000; MILLS et al., 1999; MINETO et al., 2005; PEDERSEN & HOFFMAN-GOETZ, 2000; RONSEN et al., 2004).

Os efeitos do exercício agudo sobre o aumento no número de leucócitos e linfócitos circulantes são mediados, pelo menos em parte, pela ativação do sistema nervoso simpático (MILLS et al., 1999), por meio do aumento agudo dos níveis plasmáticos de catecolaminas durante o exercício (CANALI & KRUEL, 2001; DISHMAN, 1997; KAUFMAN et al., 1994). Este mecanismo pode ter sido responsável pela leucocitose e linfocitose após as sessões do presente estudo (FIGURA 1A e 1C), visto que os animais eram sedentários e o exercício agudo.

Os resultados demonstram que o exercício moderado em relação ao leve está associado com maior mobilização celular para a corrente sanguínea, até o período de 15 minutos com relação aos leucócitos totais (FIGURA 1A) e cinco minutos para os linfócitos circulantes (FIGURA 1C), corroborando com PRESTES et al. (2007), BAIN et al. (2000), PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ (2000) que destacaram o aumento da contagem leucocitária e linfocitária na circulação geral linearmente de acordo com a elevação da intensidade do exercício. Diferentemente do padrão de resposta da contagem absoluta dos linfócitos circulantes (FIGURA 1C), a contagem relativa dessa população leucocitária não apresentou correlação com a intensidade de exercício (FIGURA 1B).

Similarmente, com relação aos linfócitos mesentéricos, os grupos Agudos cinco minutos em ambas as intensidades e 15 minutos moderado apresentaram aumentos na contagem absoluta. Aparentemente a duração do exercício é o fator mais preponderante em relação à intensidade para sessões agudas de até 15 minutos, caso as intensidades preconizadas não ultrapassem a moderada, devido ao aumento no grupo 15 minutos moderado em relação ao leve, e a não alteração entre os grupos exercitados por cinco minutos nos linfócitos mesentéricos (FIGURA 1D), diferentemente da resposta dos linfócitos circulantes que parece estar mais associada à intensidade. Respostas diferenciadas poderiam vir a ocorrer após sessões agudas de até 15 minutos, caso realizadas acima do limiar anaeróbio.

Segundo PRESTES et al. (2007), RONSEN et al. (2001), PEDERSEN e HOFFMAN-GOETZ (2000) a contagem de linfócitos nos órgãos linfóides secundários pode diminuir em sessões de exercícios realizadas por longos períodos ou em alta intensidade. Tais resultados são diferentes dos obtidos no presente estudo, já que o mesmo foi realizado em intensidades submáximas por períodos não superiores à 15 minutos, justificando a não alteração ou até mesmo aumentos no número de linfócitos mesentéricos para os grupos exercitados (FIGURA 1D).

A liberação de células do baço e órgãos linfóides tem sido cogitada como responsável pela linfocitose durante o exercício (KAUFMAN et al., 1994; NIELSEN et al., 1997), locais de armazenamento celular que provavelmente teriam contribuído para a leucocitose e linfocitose em todos os grupos exercitados (FIGURA 1A e 1C), o que esta de acordo com GABRIEL e KINDERMANN (1998) que citaram os órgãos linfóides secundários como responsáveis pelo aumento na contagem dos leucócitos circulantes. O processo de desmarginação, que compreende a mobilização dos leucócitos ligados ao endotélio de órgãos linfóides e não linfóides como baço, para a circulação geral, decorrente das alterações hemodinâmicas provocadas pelas catecolaminas (JAGELS & HUGLI, 1994; NIELSEN et al., 1997) também é tido como fator para a leucocitose observada nos grupos exercitados. Em estudo realizado por NIELSEN et al. (1997) foi demonstrado que aproximadamente 67% da linfocitose induzida pelo exercício é decorrente da liberação de células provenientes do baço e órgãos linfóides.

Interpolando os resultados da contagem absoluta dos linfócitos circulantes com os das células linfocitárias dos linfonôdos mesentéricos (FIGURA 1C e 1D), sugere-se que outros compartimentos celulares devam estar contribuindo para as alterações na contagem e redistribuição dos linfócitos após as sessões de exercícios do presente estudo.

Dentre a subpopulação de linfócitos, as células Natural Killer (NK) apresentam maiores elevações durante o exercício (FRISINA, GAUDIARI, CABLE, KEAST & PALMER, 1994; MILES, MACKINNON, GROVE, WILLIAMS, BUSH, MARX, KRAEMER & MASTRO, 2002; NIEMAN et al., 2005; PEDERSEN, ROHDE & OSTROWSKI, 1998) por apresentarem maior número de receptores β -adrenérgicos, com os linfócitos B e T-citotóxicos um número intermediário e as células T-auxiliares o menor número (PEDERSEN & STEENBERG, 2002).

KAUFMAN et al. (1994) observaram alterações diferenciadas nas subclasses linfocitárias após o exercício de natação em ratos, na circulação geral e no baço. Nos linfócitos circulantes não foram observadas alterações no percentual das células T-citotóxicas e T-auxiliares, aumento nas células NK e diminuição nos linfócitos B. Com relação aos esplenócitos, estes apresentam uma resposta inversa, com diminuição nas células T-citotóxicas, nenhuma alteração nas células T-auxiliares, diminuição nas células NK e nenhuma alteração nos linfócitos B. Embora no presente estudo, as subpopulações linfocitárias não tenham sido avaliadas, as alterações

nas contagens absoluta e relativa dos linfócitos possivelmente podem ter sido primariamente influenciadas por aumentos nas células NK.

As pesquisas com relação a mitogênese linfocitária, que também utilizaram ratos, foram realizadas com protocolos que perfizeram programas de treinamento durando de quatro até 15 semanas (HOFFMAN-GOETZ, THORNE & HOUSTON, 1988; KAUFMAN et al., 1994; MAHAN & YOUNG, 1989; NASRULLAH & MAZZEO, 1992; SUGIURA, NISHIDA, SUGIURA & MIRBOD 2002), sendo que quando se utilizaram sessões agudas, as mesmas apresentaram variação no volume de 30 minutos até a exaustão, chegando a horas de exercício ininterrupto (FERRY, WEILL & RIEU, 1990; HOFFMAN-GOETZ, THORNE & HOUSTON, 1988; KAUFMAN et al., 1994; MAHAN & YOUNG, 1989), também contrastando com o protocolo empregado no presente estudo com curta duração de até 15 minutos em intensidades submáximas.

NIEMAN et al. (2005) observaram aumento da proliferação celular, após uma sessão de exercício de caminhada em intensidade moderada por 30 minutos, em indivíduos já adaptados ao exercício. Ainda, SUGIURA et al. (2002) verificaram melhora na mitogênese de esplenócitos de ratos após oito semanas de treinamento em esteira. Em oposição FRISINA et al. (1994), SHINKAI, SHORE, SHEK e SHEPHARD (1992) demonstraram que a capacidade proliferativa celular T estava diminuída após sessões em esteira e cicloergômetro por períodos de 30 a 60 minutos, quando realizadas de forma aguda. Diferentemente FERRY, WEILL e RIEU (1990) não observaram alteração após uma sessão aguda de exercício em esteira por 60 minutos em ratos.

Sessões agudas de exercícios, realizadas por curtos períodos de cinco e 15 minutos, na intensidade leve e moderada, não foram capazes de promover alterações na mitogênese celular após estimulação com ConA, (FIGURA 2A, 2B, 2C e 2D), sugerindo que aparentemente a funcionalidade celular T não estaria afetada após sessões de exercícios realizadas nessas condições, sendo esses resultados similares aos apresentados por FERRY, WEILL e RIEU (1990) que também não observaram alterações na mitogênese das células T de ratos, após exercício em esteira realizado 60 minutos, período este, notavelmente superior ao do presente estudo. Esses resultados se diferenciam dos estudos de FRISINA et al. (1994), SHINKAI et al. (1992) onde foram observadas diminuições na resposta proliferativa celular T, após exercício realizado em esteira ou cicloergômetro. Porém as sessões realizadas

nesses estudos, apesar de realizadas de forma aguda, apresentaram duração de 30 a 60 minutos, volume este também superior ao empregado no presente estudo, o que pode justificar a discrepância nos resultados.

Porém, quando analisadas as amostras estimuladas com LPS, frente às mesmas condições de exercício, os resultados mostram diminuição da capacidade mitogênica celular para os grupos Agudos cinco minutos em ambas as intensidades e 15 minutos leve, com nenhuma alteração para o grupo 15 minutos moderado (FIGURA 3A, 3B, 3C e 3D), sugerindo de forma geral, uma diminuição na capacidade proliferativa dos linfócitos B, após sessões agudas realizadas em intensidades submáximas, mesmo que por curtos períodos de até 15 minutos.

Foi demonstrado na literatura que, diminuições na capacidade funcional linfocitária são reguladas por aumentos na capacidade fagocitária de macrófagos, contrabalanceando a redução na atividade linfóide (ORTEGA, 1994). Nesse sentido, foi observado em nosso laboratório, aumento na fagocitose dos macrófagos peritoneais nos grupos Agudos cinco e 15 minutos leve com nenhuma alteração nos grupos Agudos cinco e 15 minutos moderado (FERREIRA et al., 2007a). Aparentemente esses resultados, demonstram que a imunidade inata estaria tentando contrabalançar a diminuída funcionalidade celular B induzida por LPS (FIGURA 3A, 3B e 3C) instalada após as sessões de exercício propostas.

Ademais, os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a própria imunidade adquirida tende a também regular o seu funcionamento a cerca de suas diferentes subpopulações linfocitárias, devido à queda na mitogênese celular B induzida por LPS (FIGURA 3A, 3B e 3C) com concomitante não alteração proliferação celular T induzida por ConA (FIGURA 2A, 2B, 2C e 2D).

MENEGUELLO e COSTA ROSA (2002) demonstraram que seis semanas de exercício aeróbio de natação em ratos, foram responsáveis por diminuição da capacidade proliferativa das células linfocitárias do sangue e nenhuma alteração da mitogênese dos linfócitos mesentéricos. Nesse sentido, aparentemente a queda na capacidade proliferativa dos linfócitos

mesentéricos do presente estudo, poderia ser revertida com a continuidade do treinamento. Porém, não se pode negligenciar a diminuição na funcionalidade celular B induzida por LPS (FIGURA 3A, 3B e 3C) como sendo um quadro que poderia ser rapidamente revertido com a continuidade do treinamento, já que o tempo de permanência dessa diminuição funcional com relação aos linfócitos B desde a primeira sessão de exercício até as respostas agudas das sessões subsequentes necessita de maiores investigações. Vale ressaltar ainda, que as variações inter indivíduos, no que diz respeito a adaptação ao meio, devem ser consideradas, já que o tempo de adaptação pode apresentar diferenças entre os mesmos.

Com relação aos estudos que avaliaram a capacidade mitogênica linfocitária e nível de aptidão física, os mesmos apresentaram resultados diversos, com nenhuma alteração (NIEMAN, BUCKLEY, HENSON, WARREN, SUTTLES, AHLE, SIMANDLE, FAGOAGA & NEHLEN-CANNARELLA, 1995) ou aumento para indivíduos mais condicionados em comparação com os menos fisicamente ativos (BAJ, KANTORSKI, MAJEWSKA, ZEMAN, POKOCA, FORNALCZYK, TCHORZEWSKI, SULOWSKA & LEWICKI, 1994) necessitando de mais estudos para conclusões consistentes.

A queda na mitogênese celular B induzida por LPS pode estar associada à supressão na produção de Imunoglobulina A (IgA) salivar, porém seria prematuro afirmar tal possibilidade já que as concentrações de IgA salivar não foram dosadas.

KAUFMAN et al. (1994) avaliaram a mitogênese de esplenócitos de ratos submetidos a quatro semanas de treinamento de natação após estimulação com ConA, demonstrando aumento na mitogênese celular comparado ao grupo controle. Por outro lado, é importante ressaltar que as células analisadas foram os linfócitos provenientes do baço e alterações diferenciadas poderiam ocorrer nos linfócitos mesentéricos, mesmo sob as condições de exercício aplicadas nos animais do presente estudo. Outro indício de que a própria imunidade adquirida possa estar tentando contrabalançar a queda na funcionalidade celular B, seria o aumento na contagem absoluta de linfócitos circulantes e teciduais (FIGURA 1C e 1D), após as referidas sessões de exercícios.

Considerações finais

O presente estudo demonstrou que sessões agudas de exercícios, em intensidades submáximas, mesmo

que por curtos períodos de cinco e 15 minutos, foram responsáveis por induzir leucocitose e linfocitose. Além

disso, apesar de não terem sido capazes de alterar a capacidade proliferativa celular T induzida por ConA; de forma geral, foram responsáveis por modular negativamente a mitogênese da subpopulação de linfócitos B induzida por LPS, predizendo que aparentemente a imunidade humoral parece estar com sua funcionalidade diminuída em relação a imunidade celular no que diz respeito aos linfócitos teciduais mesentéricos. Ainda, diferenciadas respostas poderiam ocorrer na mitogênese dos linfócitos circulantes, abrindo novas perspectivas. A redistribuição de células imunes, observada entre os compartimentos de armazenamento e sangue, pode ter importantes implicações clínicas, podendo estar associada com uma

provável adequação do sistema imune a uma diminuída funcionalidade dos linfócitos mesentéricos, após sessões delineadas no presente estudo. Dessa forma, a relevância e o significado clínico dessas alterações, precisam ser mais bem esclarecidos para o melhor entendimento da complexa tríade: exercício físico; respostas imunológicas e susceptibilidade à IVASs. Sumariamente, os resultados apresentados mostram que sessões agudas de exercícios, nas intensidades leve e moderada, mesmo que por curtos períodos de cinco e 15 minutos, não são inócuas frente a resposta imune, enaltecendo a importância de mais pesquisas com protocolos de curta duração.

Abstract

Effect of acute of short term exercise on rat circulating leukocytes and tissues lymphocytes

Acute exercise sessions produce an immune system response, possibly leading to cessation, loss of continuity or performance decrement during the training period, caused by the increased upper respiratory infections (IVASs) susceptibility. Considering that lymphocyte cells have to fight infections and that sedentary subjects in poor physical condition should enroll physical programs of low intensity and volume, the aim of this study was to evaluate the amount of circulating leukocytes and lymphocytes as well as the mesenteric lymphocytes tissues, and the proliferative capacity of tissues lymphocytes in male Wistar rats submitted to acute sets of 5 and 15 minutes of low and moderate intensities. Results show leukocytosis and lymphocytosis in both groups 5 and 15 minutes of low and moderate intensities, increased tissue lymphocytes counting in the 5 minutes group of low intensity and in the 5 and 15 minutes groups of moderate intensity, in general, no alteration in the T cellular proliferative capacity, however with reduction in B lymphocytes in the 5 and 15 minutes groups of low intensity and in the 5 minutes of moderate intensity. The relevance and the clinical meaning of these alterations need to be well clarified for a better understanding of the complex triad: physical exercise, immunological responses and infections susceptibility after submaximal sets of short term.

UNITERMS: Acute physical exercise; Immune system acquired; Circulating lymphocytes; Tissues lymphocytes; Cellular redistribution; Proliferative response.

Referências

- ARLT, W.; HEWISON, M. Hormones and immune function: implications of aging. *Aging Cell*, Oxford, v.3, n.4, p.209-16, 2004.
- BAIN, B.J.; PHILLIPS, D.; THOMSON, K.; RICHARDSON, D.; GABRIEL, I. Investigation of the effect of marathon running on leucocyte counts of subjects of different ethnic origins: relevance to the aetiology of ethnic neutropenia. *British Journal of Haematology*, Oxford, v.108, n.3, p.483-7, 2000.
- BAJ, Z.; KANTORSKI, J.; MAJEWSKA, E.; ZEMAN, K.; POKOCA, L.; FORNALCZYK, E.; TCHORZEWSKI, H.; SULOWSKA, Z.; LEWICKI, R. Immunological status of competitive cyclists before and after the training season. *International Journal of Sports Medicine*, Stuttgart, v.15, n.6, p.319-24, 1994.
- CANALI, E.S.; KRUEL, L.F.M. Respostas hormonais ao exercício. *Revista Paulista de Educação Física*, São Paulo, v.15, n.2, p.141-53, 2001.

- CAVAGLIERI, C.R.; NISHIYAMA, A.; FERNANDES, L.C.; CURI, R.; MILES, E.A.; CALDER, P.C. Differential effects of short-chain fatty acids on proliferation and production of pro and anti-inflammatory cytokines by cultured lymphocytes. *Life Sciences*, Oxford, v.73, n.13, p.1683-90, 2003.
- DISHMAN, R.K. Brain monoamines, exercise, and behavioral stress: animal models. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.29, n.1, p.63-74, 1997.
- DOHI, K.; KRAEMER, W.J.; MASTRO, A.M. Exercise increases prolactin-receptor expression on human lymphocytes. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.94, n.2, p.518-24, 2003.
- DORNFEST, B.S.; LAPIN, D.M.; NAUGHTON, B.A.; ADU, S.; KORN, L.; GORDON, A.S. Phenylhydrazine-induced leukocytosis in the rat. *Journal of Leukocyte Biology*, New York, v.39, n.1, p.37-48, 1986.
- FERREIRA, C.K.O.; PRESTES, J.; DONATTO, F.F.; VIEIRA, W.H.B.; PALANCH, A.C.; CAVAGLIERI, C.R. Efeitos agudos do exercício de curta duração sobre a capacidade fagocitária de macrófagos peritoneais em ratos sedentários. *Revista Brasileira de Fisioterapia*, São Carlos, v.11, n.3, p.191-7, 2007a. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfts/v11n3/a04v11n3.pdf>>.
- FERREIRA, C.K.O.; PRESTES, J.; FROLLINI, A.B.; DONATTO, F.F.; DIAS, R.; GUERESCHI, M.G.; BRAMBILLA, S.R.; BOAVENTURA, M.F.C.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R.; VERLENGIA, R.; PALANCH, A.C.; CAVAGLIERI, C.R. Influence of short duration acute exercise on the number, viability, functionality and apoptosis of neutrophils in sedentary rats. *Journal of Exercise and Physiology Online*, v.10, n.6, p.27-36, 2007b.
- FERRY, A.; WEILL, B.L.; RIEU, M. Immunomodulations induced in rats by exercise on a treadmill. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.69, n.5, p.1912-5, 1990.
- FU, S.C.; QIN, L.; LEUNG, C.K.; CHAN, B.P.; CHAN, K.M. Regular moderate exercise training prevents decrease of CD4+ T-lymphocytes induced by a single bout of strenuous exercise in mice. *Canadian Journal of Applied Physiology*, Champaign, v.28, n.3, p.370-81, 2003.
- FRISINA, J.P.; GAUDIERI, S.; CABLE, T.; KEAST, D.; PALMER, T.N. Effects of acute exercise on lymphocytes subsets and metabolic activity. *International Journal of Sports Medicine*, Stuttgart, v.15, n.1, p.36-41, 1994.
- GABRIEL, H.H.; KINDERMANN, W. Adhesion molecules during immune response to exercise. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, Ottawa, v.76, n.5, p.512-23, 1998.
- GALBO, H.; RICHTER, E.A.; HOLST, J.J.; CHRISTENSEN, N.J. Diminished hormonal responses to exercise in trained rats. *Journal of Applied Physiology*, Washington, v.43, n.6, p.953-8, 1977.
- GONÇALVES, A.L.; LUCIANO, E. Respostas inflamatórias em ratos wistar submetidos a atividade física. *Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde*, Londrina, v.4, n.1, p.39-46, 1999.
- GREEN, K.J.; CROAKER, S.J.; ROWBOTTOM, D.G. Carbohydrate supplementation and exercise-induced changes in T-lymphocyte function. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.95, n.3, p.1216-23, 2003.
- GREEN, K.J.; ROWBOTTOM, D.G. Exercise-induced changes to in vitro T-lymphocyte mitogen responses using CFSE. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.95, n.1, p.57-63, 2003.
- GREEN, K.J.; ROWBOTTOM, D.G.; MACKINNON, L.T. Exercise and T-lymphocyte function: a comparison of proliferation in PBMC and NK cell-depleted PBMC culture. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.92, n.6, p.2390-5, 2002.
- HOFFMAN-GOETZ, L. Effect of estradiol and exercise on lymphocyte proliferation responses in female mice. *Physiology and Behavior*, Oxford, v.68, n.1-2, p.169-74, 1999.
- HOFFMAN-GOETZ, L.; THORNE, R.J.; HOUSTON, M.E. Splenic immune responses following treadmill exercise in mice. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, Ottawa, v.66, n.11, p.1415-9, 1988.
- JAGELS, M.A.; HUGLI, T.E. Mechanisms and mediators of neutrophilic leukocytosis. *Immunopharmacology*, New York, v.28, n.1, p.1-18, 1994.
- KAUFMAN, J.C.; HARRIS, T.J.; HIGGINS, J.; MAISEL, A.S. Exercise-induced enhancement of immune function in the rat. *Circulation*, Dallas, v.90, n.1, p.525-32, 1994.
- KOYAMA, K.; KAYA, M.; TSUJITA, J.; HORI, S. Effects of decreased plasma glutamine concentrations on peripheral lymphocyte proliferation in rats. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, Berlin, v.77, n.1-2, p.25-31, 1998.
- MACKINNON, L.T. Immunity in athletes. *International Journal of Sports Medicine*, Stuttgart, v.18, p.S62-8, 1997. Supplement 1.
- MAHAN, M.P.; YOUNG, M.R. Immune parameters of untrained or exercise-trained rats after exhaustive exercise. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.66, n.1, p.282-7, 1989.
- MENEGUELLO, M.O.; COSTA ROSA, L.F.B.P. Efeito da restrição calórica e do exercício aeróbico em linfócitos e macrófagos de ratos envelhecidos. *Revista Paulista de Educação Física*, São Paulo, v.16, n.1, p.16-26, 2002.

- MEYER, T.; FAUDE, O.; URHAUSEN, A.; SCHARHAG, J.; KINDERMANN, W. Different effects of two regeneration regimens on immunological parameters in cyclists. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.36, n.10, p.1743-9, 2004.
- MILES, M.P.; MACKINNON, L.T.; GROVE, D.S.; WILLIAMS, N.I.; BUSH, J.A.; MARX, J.O.; KRAEMER, W.J.; MASTRO, A.M. The relationship of natural killer cell counts, mRNA and CD2 expression to post-exercise natural killer cell activity in humans. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.174, n.4, p.317-25, 2002.
- MILLS, P.J.; REHMAN, J.; ZIEGLER, M.G.; CARTER, S.M.; DIMSDALE, J.E.; MAISEL, A.S. Nonselective ? Blockade attenuates the recruitment of CD62L T lymphocytes following exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, Berlin, v.79, n.6, p.531-4, 1999.
- MINETO, M.; RAINOLDI, A.; GAZZONI, M.; TERZOLO, M.; BORRIONE, P.; TERMINE, A.; SABA, L.; DOVIO, A.; ANGELI, A.; PACCOTTI, P. Differential responses of serum and salivary interleukin-6 to acute strenuous exercise. **European Journal of Applied Physiology**, Berlin, v.93, n.5-6, p.679-86, 2005.
- MOOREN, F.C.; LECHTERMANN, A.; VÖLKER, K. Exercise-induced apoptosis of lymphocytes depends on training status. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.36, n.9, p.1476-83, 2004.
- NASRULLAH, D.I.; MAZZEO, R.S. Age-related immunosenescence in Fischer 344 rats: influence of exercise training. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.73, n.5, p.1932-8, 1992.
- NIELSEN, H.B.; PEDERSEN, B.K. Lymphocyte proliferation in response to exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, Berlin, v.75, n.5, p.375-9, 1997.
- NIELSEN, H.B.; SECHER, N.H.; KRISTENSEN, J.H.; CHRISTENSEN, N.J.; ESPERSEN, K.; PEDERSEN, B.K. Splenectomy impairs lymphocytosis during maximal exercise. **American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v.272, p.R1847-52, 1997.
- NIEMAN, D.C.; BISHOP, N.C. Nutritional strategies to counter stress to the immune system in athletes, with special reference to football. **Journal of Sports Sciences**, London, v.24, n.7, p.763-72, 2006.
- NIEMAN, D.C.; BUCKLEY, K.S.; HENSON, D.A.; WARREN, B.J.; SUTTLES, J.; AHLE, J.C.; SIMANDLE, S.; FAGOAGA, O.R.; NEHLSSEN-CANNARELLA, S.L. Immune function in marathon runners versus sedentary controls. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.27, n.7, p.986-92, 1995.
- NIEMAN, D.C.; HENSON, D.A.; AUSTIN, M.D.; BROWN, V.A. Immune response to a 30-minute walk. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.37, n.1, p.57-62, 2005.
- NIEMAN, D.C.; PEDERSEN, B.K. Exercise and immune function: recent developments. **Sports Medicine**, Auckland, v.27, n.2, p.73-80, 1999.
- ORTEGA, E. Physiology and biochemistry: influence of exercise on phagocytosis. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.15, p.S172-S8, 1994. Supplement 3.
- OTTON, R.; MENDONÇA, J.R.; CURI, R. Diabetes causes marked changes in lymphocyte metabolism. **Journal of Endocrinology**, London, v.174, n.1, p.55-61, 2002.
- PEDERSEN, B.K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiological Reviews**, Bethesda, v.80, n.3, p.1055-81, 2000.
- PEDERSEN, B.K.; ROHDE, T.; OSTROWSKI, K. Recovery of the immune system after exercise. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.162, n.3, p.325-32, 1998.
- PEDERSEN, B.K.; STEENBERG, A. Exercise and hypoxia: effects on leukocytes and interleukin-6 - shared mechanisms? **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.34, n.12, p.2004-13, 2002.
- PEDERSEN, B.K.; TOFT, A.D. Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. **British Journal of Sports Medicine**, London, v.34, n.4, p.246-51, 2000.
- PIRES, J.; CURI, R.; OTTON, R. Induction of apoptosis in rat lymphocytes by starvation **Clinical Science**, London, v.112, n.1, p.59-67, 2007.
- PRESTES, J.; FERREIRA, C.K.O.; FROLLINI, A.B.; DIAS, R.; DONATTO, F.F.; GUERESCHI, M.G.; PALANCH, A.C.; PEREZ, S.E.A.; CAVAGLIERI, C.R. Influência do exercício físico agudo realizado até a exaustão sobre o número de leucócitos, linfócitos e citocinas circulantes. **Fitness & Performance Journal**, Rio de Janeiro, v.6, n.1, p.446-51, 2007.
- ROGATTO, G.P.; LUCIANO, E. Perfil leucocitário de ratos submetidos ao exercício resistido crônico. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.18, n.1, p.51-63, 2002.
- RONSEN, O.; BORSHEIM, E.; PEDERSEN, B.K.; HAUG, E.; KJELDSEN-KRGAH, J.; HOSTMARK, A.T. Immuno-endocrine and metabolic responses to long distance ski racing in world-class male and female cross-country skiers. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, Copenhagen, v.14, n.1, p.39-48, 2004.

- RONSEN, O.; PEDERSEN, B.K.; ORITSLAND, T.R.; BAHR, R.; KJELDSSEN-KRAGH, J. Leukocyte counts and lymphocyte responsiveness associated with repeated bouts of strenuous endurance exercise. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v.91, n.1, p.425-34, 2001.
- SERRANO, M.A.R.; CURI, R.; PARRY-BILLINGS, M.; WILLIAMS, J.F.; NEWSHOLME, E.A. Effects of glucocorticoids on lymphocytes metabolism. **American Journal Physiology: Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, v.264, p.E24-8, 1993.
- SHINKAI, S.; SHORE, S.; SHEK, P.N.; SHEPHARD, R.J. Acute exercise and immune function: relationship between lymphocyte activity and changes in subset counts. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.13, n.6, p.452-61, 1992.
- SU, S.H.; CHEN, H.; JEN, C. Severe exercise enhances phagocytosis by murine bronchoalveolar macrophages. **Journal of Leukocyte Biology**, New York, v.69, n.1, p.75-80, 2001.
- SUGIURA, H.; NISHIDA, H.; SUGIURA, H.; MIRBOD, S.M. Immunomodulatory action of chronic exercise on macrophage and lymphocyte cytokine production in mice. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.174, n.3, p.247-56, 2002.
- TUAN, T.C.; HSU, T.G.; FONG, M.C.; HSU, C.F.; TSAI, K.K.C.; LEE, C.Y.; KONG, C.W. Deleterious effects of short-term, high-intensity exercise on immune function: evidence from leucocyte mitochondrial alterations and apoptosis. **British Journal of Sports Medicine**, London, v.42, n.1, p.11-15, 2008.
- VOLTARELLI, F.A.; GOBATTO, C.A.; MELLO, M.A.R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.35, n.11, p.1389-94, 2002.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio financeiro PIBIC/CNPq, CAPES/PROSUP e FAP/UNIMEP, a Prof. Dra. Iracilda Zeppone Carlos e Prof. Dra. Anita Nishiyama pelo auxílio científico, assim como a técnica de laboratório Patrícia Carla Paulino Belotto pelo apoio técnico nos experimentos.

ENDEREÇO
Cláudia Regina Cavaglieri
Núcleo de Performance Humana
Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade Metodista de Piracicaba
Rod. do Açúcar, km 156 - Campus Taquaral
13400-911 - Piracicaba - SP - BRASIL
e-mail: ccavagli@unimep.br

Recebido para publicação: 10/07/2007
1a. Revisão: 21/01/2008
2a. Revisão: 31/03/2008
Aceito: 06/05/2008