

EFEITOS AGUDOS DO EXERCÍCIO DE CURTA DURAÇÃO SOBRE A CAPACIDADE FAGOCITÁRIA DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS EM RATOS SEDENTÁRIOS

FERREIRA CKO¹, PRESTES J², DONATTO FF¹, VIEIRA WHB², PALANCH AC¹ E CAVAGLIERI CR¹

¹ PPG em Educação Física, Universidade Metodista de Piracicaba, Piracicaba, SP - Brasil

² Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP - Brasil

Correspondência para: Prof. Jonato Prestes, Rua Major José Inácio, 2400, Centro, Edifício Ouro Preto, Apto 13, São Carlos, SP – Brasil, CEP 13560-161, e-mail: jonatop@gmail.com

Recebido: 08/05/2006 - Revisado: 23/10/2006 - Aceito: 01/02/2007

RESUMO

Objetivo: Analisar os efeitos agudos do exercício de curta duração em diferentes durações e intensidades sobre leucócitos totais, número e capacidade fagocitária de macrófagos peritoneais. **Método:** Foram utilizados ratos Wistar (n= 30, n= 6 por grupo), divididos em 5 grupos: controle sedentário (C); exercitados 5 minutos na intensidade leve ou moderada (5L e 5M, respectivamente); exercitados 15 minutos na intensidade leve ou moderada (15L e 15M, respectivamente). Na intensidade leve, o exercício foi realizado sem cargas; na moderada, foi utilizada carga adicional de 5% do peso corporal dos animais em suas regiões dorsais. A contagem total de leucócitos e monócitos foi realizada no microscópio, cuja leitura foi procedida no aparelho LEUCOTRON TP. A porcentagem da fagocitose foi determinada por contagem em câmara de Neubauer através do número de células que fagocitaram três ou mais partículas de zymosan. Foram utilizados os testes ANOVA two way e Tukey com $p \leq 0,05$. **Resultados:** Foi observado aumento nos leucócitos totais nos grupos exercitados (de $4,12 \pm 0,17 \times 10^6$ para $8,69 \pm 1,06 \times 10^6$ no grupo 5L, $9,5 \pm 0,91 \times 10^6$ no grupo 15L, $12,56 \pm 0,9 \times 10^6$ no grupo 5M e para $11,61 \pm 0,6 \times 10^6$ no grupo 15M); aumento do número de macrófagos peritoneais após 15 minutos de exercício moderado (de $14,07 \pm 0,57 \times 10^6$ para $20,9 \pm 1,28 \times 10^6$) e da capacidade fagocitária após 5 e 15 minutos de exercício leve de $74,8 \pm 0,73\%$ para $79,8 \pm 0,8\%$ e $83\% \pm 0,44\%$, respectivamente ($p \leq 0,05$). **Conclusões:** O exercício de curta duração promove aumento na capacidade fagocitária, fato esse de relevância para a reabilitação e esporte.

Palavras-chave: exercício físico; sistema imunológico; macrófagos; capacidade fagocitária.

ABSTRACT

Acute effects of short-duration exercise on the phagocytic capacity of peritoneal macrophages in sedentary rats

Objective: To analyze the acute effects of short-duration exercise of different lengths and intensities on total leukocytes, peritoneal macrophage count and on the phagocytic capacity of peritoneal macrophages. **Method:** Five groups of Wistar rats were used (n= 30, n= 6 per group): one sedentary control group (C); two groups exercised for 5 minutes at low or moderate intensity (5L and 5M, respectively); and two groups exercised for 15 minutes at low or moderate intensity (15L and 15M, respectively). Low-intensity exercise was done without any load, while moderate-intensity was done with an additional load of 5% of the animal's body weight, attached to its back. The total leukocyte and monocyte counts were obtained under a microscope, and the readings were made with the Leucotron TP apparatus. The percentage phagocytosis was determined by counting in a Neubauer chamber, from the number of cells that phagocytized three or more particles of zymosan. Two-way ANOVA and Tukey tests were used, with $p \leq 0.05$. **Results:** There was an increase in total leukocytes in the exercised groups (from $4.12 \pm 0.17 \times 10^6$ to $8.69 \pm 1.06 \times 10^6$ for 5L, $9.5 \pm 0.91 \times 10^6$ for 15L, $12.56 \pm 0.9 \times 10^6$ for 5M and $11.61 \pm 0.6 \times 10^6$ for 15M), an increase in peritoneal macrophage count after 15 minutes of moderate exercise (from $14.07 \pm 0.57 \times 10^6$ to $20.9 \pm 1.28 \times 10^6$) and an increase in phagocytic capacity after 5 and 15 minutes of light exercise (from $74.8 \pm 0.73\%$ to $79.8 \pm 0.8\%$ and $83\% \pm 0.44\%$, respectively) ($p \leq 0.05$). **Conclusion:** Short-duration exercise promotes increased phagocytic capacity. This is of importance for rehabilitation and sports.

Key words: physical exercise; immunological system; macrophages; phagocytic capacity.

INTRODUÇÃO

A fisioterapia é uma área de atuação que, em sua prática diária, utiliza o exercício físico como ferramenta importante de intervenção tanto do ponto de vista preventivo quanto terapêutico. Assim, para alguns profissionais da área da saúde, em destaque o fisioterapeuta, o professor de educação física e o médico do esporte, aspectos envolvendo o exercício físico se fazem necessários para serem investigados como objeto de estudo, particularmente os relacionados ao sistema imunológico, considerando a importância deste frente às respostas ao exercício.

Assim, intensidade, duração e frequência do exercício exercem papel-chave na determinação das respostas imunes a um esforço, podendo aumentar ou reduzir a função imune¹⁻⁴. Enquanto o exercício moderado regular é comumente associado com a diminuição da susceptibilidade a infecções, o exercício exaustivo de longa duração tem sido associado com sintomas de imunossupressão transitória, com aumento da susceptibilidade a infecções²⁻⁵. Essas respostas são altamente dependentes da habilidade dos leucócitos em migrarem do sangue para os tecidos periféricos em locais de inflamação. A migração, rolamento, ativação e forte adesão dos leucócitos compreendem o clássico paradigma do recrutamento inflamatório celular⁵.

Neste contexto, o estresse induzido pelo exercício pode estimular a capacidade fagocitária de macrófagos e neutrófilos, no entanto, pouco se sabe sobre a influência do exercício físico de curta duração sobre estes parâmetros imunes, especialmente no caso do exercício leve e moderado que vem sendo praticado pela população em geral, visto que, devido às mudanças nos padrões de vida e jornada de trabalho, os indivíduos têm menor tempo disponível para a prática do exercício^{6,7}.

Portanto, o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos agudos do exercício físico de curta duração com 5 e 15 minutos nas intensidades leve e moderada sobre leucócitos, número e capacidade fagocitária de macrófagos peritoneais em ratos sedentários.

METODOLOGIA

Animais

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus var. albinus, Rodentia, Mamalia*), com dois meses de idade, obtidos do biotério central. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (três animais por gaiola), receberam água e alimentação *ad libitum*. O ambiente foi mantido com temperatura constante de 23°C ± 2°C e ciclo claro/escuro de 12/12 horas. Antes de iniciar o período experimental, os animais permaneceram por 48 horas em adaptação às condições do biotério de pesquisa. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética na

Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (nº protocolo: 017/06).

Grupos Experimentais

Os animais foram divididos em cinco grupos (n= 6 por grupo), sendo estes: (1) grupo controle sedentário, que não teve nenhum contato com a água (C); (2) grupo exercitado 5 minutos na intensidade leve (5L); (3) grupo exercitado 15 minutos na intensidade leve (15L); (4) grupo exercitado 5 minutos na intensidade moderada (5M) e (5) grupo exercitado 15 minutos na intensidade moderada (15M).

Protocolo experimental

O exercício físico utilizado foi a natação, realizada em um tanque com a temperatura de 32°C. Todos os animais eram sedentários, sendo que os animais submetidos ao exercício realizaram apenas uma sessão de natação, sendo esse de 5 ou 15 minutos na intensidade leve ou moderada. Para realização do exercício na intensidade moderada, cargas adicionais com 5% do peso corporal dos animais foram acopladas em suas regiões dorsais, o que corresponde a uma intensidade abaixo do limiar anaeróbio^{8,9}, sendo que no exercício de intensidade leve não se fez uso de cargas adicionais. Os animais dos grupos experimentais foram submetidos separadamente ao exercício físico e sacrificados de 3 a 4 minutos após o final das sessões de exercício para análise das variáveis sanguíneas e teciduais, as quais foram realizadas no mesmo período do dia (entre 14 e 17 horas). Vale destacar que os animais de todos os grupos, incluindo o grupo controle, foram submetidos à mesma influência do ritmo circadiano hormonal, visando, com isso, minimizar possíveis alterações fisiológicas decorrentes de coletas realizadas em momentos diferentes do dia.

Leucócitos totais

Após o sacrifício dos animais, o sangue foi colhido em tubo de vidro que continha EDTA - anticoagulante para hematologia (100 µl para 3,5 ml de sangue); uma alíquota de 10 µl do sangue foi retirada e colocada em um tubo de plástico com 190 µl do corante TURKEY (Cat. No. 8002-33-3, Sigma, St. Louis, MO, USA). Com uma pipeta, o tubo foi homogeneizado e a câmara de Neubauer foi preenchida, sendo realizada a contagem total dos leucócitos no microscópio (Cálculo: número encontrado na soma dos 4 quadrantes ÷ 4 (número de quadrantes) x 20 (diluição) = número x 10⁴). Os resultados foram expressos x 10⁶, seguindo as descrições de Dornfest et al.¹⁰.

Contagem de monócitos

O sangue foi colhido em tubo de vidro que continha EDTA (100 µl para 3,5 ml de sangue). O tubo foi homogeneizado para realização do esfregaço; em uma lâmina (preparada 24h antes), foram colocados 7,5 µl de sangue

e com a lâmina extensora a gota de sangue foi pressionada com ângulo de 45° em relação à extremidade, sendo realizado o esfregaço. A lâmina foi seca a temperatura ambiente (2 a 3 minutos) sendo feita a coloração (foram colocados sobre a lâmina de esfregaço 3ml MAY GRUNWALD e GIEMSA, corantes, Cat. No. 32856, Sigma, St. Louis, MO, USA). Após 4 minutos, foram adicionados 5 ml de água destilada na lâmina e 2 minutos foram esperados; a lâmina foi lavada com água corrente e posicionada de forma inclinada para secar em temperatura ambiente. Após a secagem, a leitura foi procedida em microscópio ótico, com aumento de 100 vezes, sendo a contagem registrada no aparelho LEUCOTRON TP para determinação do percentual de monócitos circulantes. Essa metodologia foi realizada acompanhando as especificações propostas por Dornfest et al.¹⁰.

Macrófagos peritoneais

Foram injetados 10 ml de PBS com pH de 7,2 no peritônio do animal, sendo feita uma massagem seguida de corte longitudinal para coleta do líquido injetado; com uma pipeta de Pasteur o líquido da cavidade peritoneal foi coletado. Posteriormente, o líquido foi colocado em um tubo de ensaio e centrifugado por 1 minuto a 2000 rpm até a formação do *Pelet*; o sobrenadante foi descartado e o *Pelet* ressuscitado em 10 ml de PBS (diluição 10x) tubo 1; foi extraído 1 ml da amostra do tubo 1, colocado em outro tubo e acrescentado 9 ml de PBS, tubo 2 (diluição 10x); 100 ml da amostra do tubo 2 foram colhidos e colocados em um tubo de plástico. Nesse tubo de plástico foram adicionados 100 ml de Triplan Blue e o conteúdo foi homogeneizado com pipeta (diluição 2x). Em seguida, a câmara de Neubauer foi preenchida e feita a contagem do número total de macrófagos peritoneais no

microscópio (Cálculo: número encontrado na soma dos 4 quadrantes, 4 (número de quadrantes) x 50 (diluição = 10 x 10 x 2) = número x 10⁴). Os resultados foram expressos x 10⁶, conforme descrito por Pithon-Curi et al.¹¹.

Capacidade fagocitária de macrófagos peritoneais

Os macrófagos foram incubados com 10ml de PBS contendo zymosan (zymozan: 50µl, Cat. No. Z-7250, Sigma, St. Louis, MO USA) por 30 minutos a 37°C; após a incubação foi extraída uma alíquota de 100 µl, colocada em tubo de ensaio de plástico e adicionados 100 µl de triplan blue; a câmara de Neubauer foi preenchida e 100 células (macrófagos) foram contadas e, dentre essas, quantas incorporaram o Zymozan; a incorporação só foi válida quando, no mínimo, 3 partículas de Zymozan tinham sido incorporadas; o valor encontrado expressou o percentual de macrófagos peritoneais que incorporaram no mínimo 3 partículas de zymozan de acordo com as descrições metodológicas de Pithon-Curi et al.¹¹.

Análise estatística

Todos os dados foram expressos como média ± Erro-padrão da Média (EPM). A análise estatística foi realizada inicialmente pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e pelo teste de homocedasticidade (critério de Bartlett). Todas as variáveis analisadas apresentaram distribuição normal e homocedasticidade, sendo utilizada a Anova two way (levando-se em consideração as variáveis intervenientes intensidade x duração) e quando a diferença apresentada era significativa, aplicou-se o teste de Tukey post hoc para as comparações múltiplas e teste F. Em todos os cálculos foi fixado um $p \leq 0,05$. O *software* utilizado em todos os testes estatísticos foi o Statistica® 6.1.

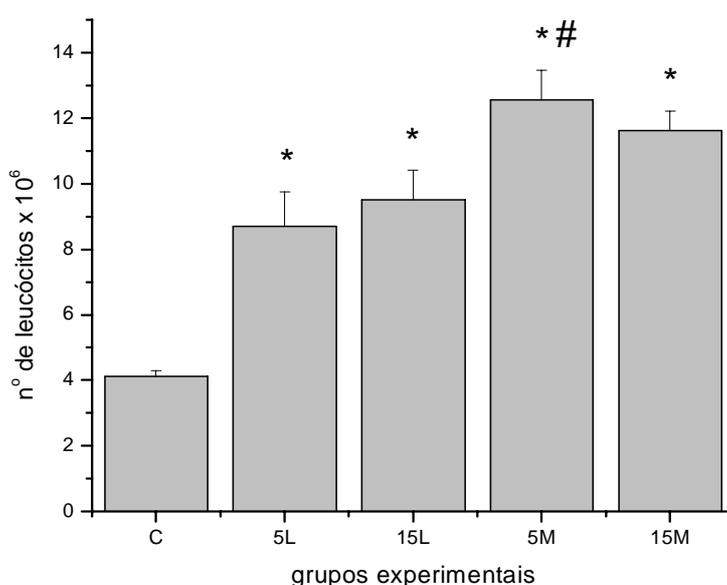


Figura 1. Leucócitos totais. Os resultados são expressos pela média ± erro-padrão da média; *quando comparado com o grupo controle; # quando feita a comparação entre os grupos da mesma duração, porém com intensidades diferentes.

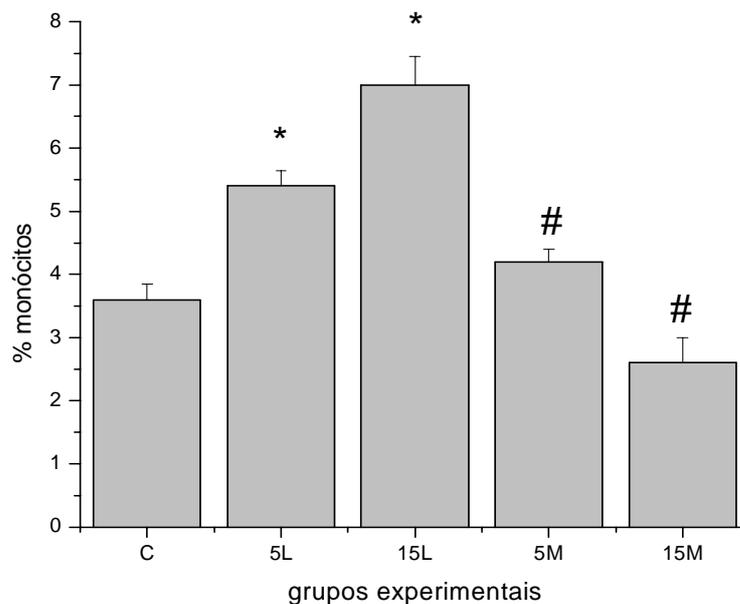


Figura 2. Percentual de monócitos circulantes. Os resultados são expressos pela média \pm erro-padrão da média; *quando comparado com o grupo controle; # quando feita a comparação entre os grupos da mesma duração, porém com intensidades diferentes.

RESULTADOS

Leucócitos totais e número de monócitos

Quando realizada a comparação dos grupos exercitados em curta duração nas intensidades leve e moderada com o grupo controle, foi possível observar um aumento significativo nos leucócitos totais em todos os grupos exercitados, sendo esses aumentos de 111%, 130,6%, 204,85% e 181,8% para os grupos 5L, 15L, 5M e 15M ($p=0,0028$, $p=0,0004$, $p=0,00001$ e $p=0,00002$), respectivamente. Na comparação entre grupos exercitados, foi constatada leucocitose estatisticamente significativa no grupo que se exercitou por cinco minutos na intensidade moderada em relação ao grupo cinco minutos na intensidade leve, sendo este valor 44,53% maior ($p=0,0244$) (Figura 1).

Na contagem de monócitos, observou-se aumento de 68,42% e 84,21% nos grupos 5L e 15L ($p=0,0008$ e $p=0,0001$), respectivamente em relação ao controle. Na comparação entre os grupos experimentais, foi observada diminuição de 52,38% no percentual de monócitos circulantes no grupo 5M em relação ao grupo 5L ($p=0,0052$), bem como no grupo 15 minutos exercitado na intensidade moderada, o qual apresentou um percentual de monócitos 169,23% menor em relação ao grupo que utilizou a intensidade leve ($p=0,00008$) (Figura 2).

Número total e capacidade fagocitária de macrófagos

Foi observado aumento significativo de 32,68% no número total de macrófagos peritoneais no grupo 15M em relação ao controle ($p=0,0012$). Na comparação entre os grupos exercitados, foi observada redução estatisticamente

significante de 34% nos macrófagos teciduais somente no grupo cinco minutos moderado em relação a cinco minutos leve ($p=0,0021$) (Figura 3). Na capacidade fagocitária, foi observado aumento significativo de 7% e 11,26% nos grupos 5L e 15L ($p=0,0017$ e $p=0,00001$), respectivamente, quando comparados com o controle. Na comparação entre grupos, foi constatada capacidade fagocitária 6,4% menor no grupo cinco minutos moderado em relação ao grupo que se exercitou na mesma duração em intensidade leve ($p=0,0032$) (Figura 4).

DISCUSSÃO

A prescrição do exercício físico tem sido utilizada como ferramenta de intervenção pelos profissionais da área da saúde, especialmente pelos fisioterapeutas e educadores físicos com o objetivo profilático, terapêutico e/ou de aptidão física. No entanto, existem poucas evidências com relação às respostas fisiológicas do exercício de curta duração, principalmente no que concerne à resposta imune, visto que os fatores imunológicos estão diretamente ligados com a saúde em geral.

A leucocitose ocorre em resposta ao estresse físico agudo, assim como em exercícios físicos intensos e de curta duração, sendo um fenômeno bem documentado na literatura¹². Os efeitos desse tipo de exercício físico sobre o aumento no número de leucócitos circulantes são mediados, pelo menos em parte, pela ativação do sistema nervoso simpático¹³ e aumento agudo dos níveis plasmáticos de catecolaminas durante o exercício¹⁴. A leucocitose pode aumentar linearmente de acordo com a elevação da intensidade

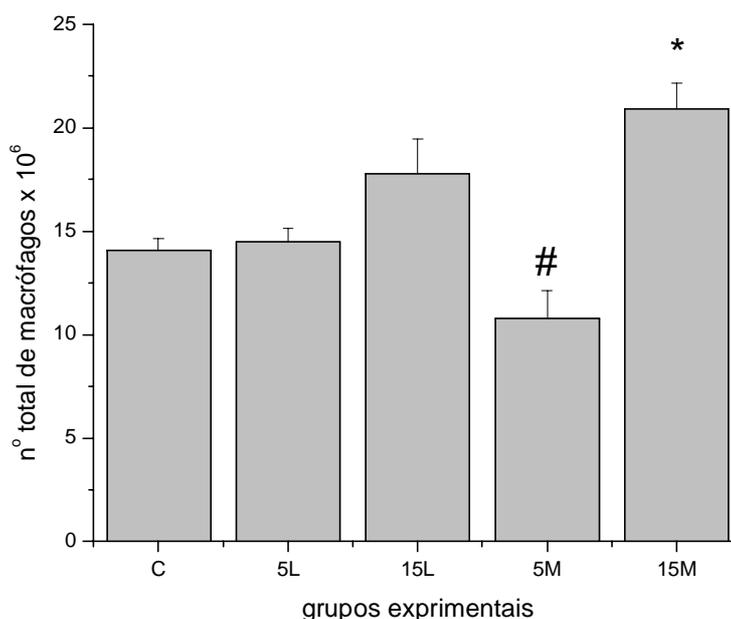


Figura 3. Número total de macrófagos peritoneais. Os resultados são expressos pela média do número de leucócitos e percentual de células \pm erro-padrão da média; *quando comparado com o grupo controle; # quando feita a comparação entre os grupos da mesma duração, porém com intensidades diferentes.

do exercício, que poderá também promover maior resposta das catecolaminas¹²⁻¹⁴.

Essa leucocitose induzida pelo exercício físico foi encontrada neste trabalho através dos aumentos significativos detectados no número de leucócitos totais circulantes em todos os grupos exercitados quando comparados ao grupo controle não exercitado. Corroborando com os autores¹²⁻¹⁴, os grupos 5 e 15 minutos que utilizaram intensidade maior (moderada) apresentaram leucocitose percentualmente maior em relação aos grupos de intensidade leve.

Os monócitos são precursores dos macrófagos na circulação e eles podem ser encontrados livres ou marginados¹⁵. No caso do exercício físico, tem sido observado aumento no número de monócitos como resultado da desmarginação mediada por catecolaminas que são liberadas durante esse tipo de atividade^{6,16}. Estes dados também foram observados neste estudo, cujo percentual de monócitos aumentou somente nos grupos exercitados na intensidade leve, possivelmente devido ao mecanismo citado acima.

O exercício extenuante diminui o número de macrófagos peritoneais em ratos, e a magnitude deste efeito é positivamente correlacionada com a concentração de corticosterona plasmática⁶. Para entender a relevância fisiológica dos glicocorticóides em mediar os efeitos do exercício sobre o número total de macrófagos peritoneais, a resposta com diferentes concentrações de corticosterona foi mensurada em ratos¹⁷. Parece existir uma concentração fisiológica na qual os glicocorticóides podem estimular macrófagos, de acordo com a idéia de que baixos níveis de glicocorticóides podem realçar a imunidade ao invés de suprimi-la^{13,17,18}. A

inibição da função de monócitos e macrófagos requer que o fagócito mononuclear seja exposto a uma saturação de 50% ou maior dos receptores de glicocorticóides disponíveis por pelo menos 24 horas¹.

Neste estudo, encontrou-se aumento na quantidade de macrófagos peritoneais no grupo que realizou o exercício durante 15 minutos em intensidade moderada, quando comparado ao grupo controle, conforme encontrado por Ortega¹. Além disso, foi encontrada maior capacidade fagocitária nos grupos exercitados cinco e quinze minutos em intensidade leve, conforme encontrado por outros autores^{6,16,18}. O exercício pode modular o número e a função das células do sistema imune inato, neste caso, aumentando a capacidade fagocitária de macrófagos peritoneais no exercício de curta duração e intensidade leve. Assim, o presente estudo demonstra que o exercício com duração de até 15 minutos em intensidade leve pode melhorar a função imune por meio do aumento da capacidade fagocitária. Esse fato é de extrema importância para os profissionais envolvidos com a prescrição de exercício, uma vez que esse tipo de atividade produz benefícios para o sistema imune e assim pode ser utilizada como modalidade segura e eficaz na reabilitação. O aumento na concentração de glicocorticóides, catecolaminas, prolactina, hormônios da tireóide e β -endorfinas podem aumentar a capacidade fagocitária de macrófagos, sendo que essas substâncias podem ser estimuladas pelo exercício físico¹. Neste sentido, Ortega et al.¹⁹, ao avaliarem ciclistas durante todo período competitivo, observaram aumento na capacidade fagocitária em relação aos valores basais. Adicionalmente, o aumento da capacidade fagocitária em ciclistas mostrou

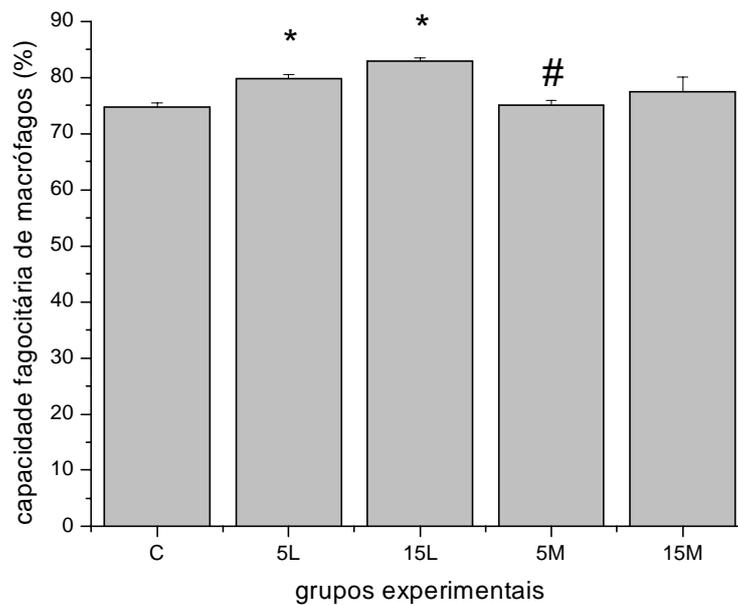


Figura 4. Capacidade fagocitária de macrófagos peritoneais. Os resultados são expressos pela média do número de leucócitos e percentual de células \pm erro-padrão da média; *quando comparado com o grupo controle; # quando feita a comparação entre os grupos da mesma duração, porém com intensidades diferentes.

forte correlação com as concentrações de catecolaminas. Esses dois parâmetros, em conjunto, são considerados bons indicadores da função imunológica, não apenas em atletas, como também na população em geral. Corroborando esses resultados, foi encontrado que atletas de basquetebol possuem maior capacidade fagocitária do que indivíduos sedentários²⁰. Dessa forma, a intensidade do exercício físico se mostra um fator determinante da função imunológica, sendo essa resposta diferente dependendo da população envolvida.

No presente estudo, embora não tenha aumentado o número total de macrófagos peritoneais, o exercício físico de curta duração na intensidade leve aumentou a capacidade fagocitária dessas células. Possivelmente, os efeitos de outras sessões de curta duração podem auxiliar no aumento da proteção imunológica do organismo, não como adaptação crônica, mas como efeitos agudos somados, visto que a capacidade fagocitária de macrófagos constitui um passo importante na primeira linha de defesa imune contra agentes infecciosos.

Nesse contexto, no presente estudo, foi evidenciado que a intensidade leve se mostrou mais eficiente em aumentar a capacidade fagocitária de macrófagos peritoneais em relação à intensidade moderada, como também verificado por Ortega et al.²¹, diferentemente do que pode ser encontrado em atletas^{19,20}. Esse resultado é interessante, pois pode ser utilizado como parâmetro na aplicação do exercício físico para indivíduos sedentários e/ou portadores de patologias limitantes, fato esse de extrema importância para a fisioterapia.

CONCLUSÕES

O exercício físico de curta duração realizado em intensidade leve contribuiu principalmente para a manutenção do número e o aumento da capacidade fagocitária de macrófagos teciduais, possibilitando uma melhora da função imune. Sendo assim, sugere-se que o exercício com duração de 5 a 15 minutos na intensidade leve possa ser utilizado na prática de forma segura e eficaz pelos profissionais envolvidos com a prescrição do exercício voltado para a saúde.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ortega E. Neuroendocrine mediators in the modulation of phagocytosis by exercise: physiological implications. *Exerc Immunol Rev.* 2003;9(1):70-93.
2. Asgeirsson G, Bellanti J. Exercise, immunology and infection. *Semin Adolesc Med.* 1987;3(3):199-204.
3. Timmons BW, Tarnopolsky MA, 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.* 2006;100(5):1513-9.
4. Fitzgerald L. Exercise and the immune system. *Immunol Today.* 1988;9(1):337-9.
5. Friman G, Ilbäck NG. Acute infection: Metabolic responses, effects on performance, interaction with exercise, and myocarditis. *Int J Sports Med.* 1998;19 Suppl 3:S172-82.

6. Escribano BM, Castejon FM, Vivo R, Santisteban R, Aguera EI, Rubio MD. Effects of training on phagocytic and oxidative metabolism of peripheral neutrophils in horses exercised in the aerobic-anaerobic transition area. *Vet Res Commun*. 2005;29(2):149-58.
7. Saxton JM, Claxton D, Winter E, Pockley AG. Peripheral blood leucocyte functional responses to acute eccentric exercise in humans are influenced by systemic stress but not by exercise-induced muscle damage. *Clin Sci*. 2003;104(1):69-77.
8. Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LAS, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2001;130(1):21-7.
9. Voltarelli FA, Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res*. 2002;35(11):1389-94.
10. Dornfest BS, Lapin DM, Naughton BA, Adu S, Korn L, Gordon AS. Phenylhydrazine-induced leukocytosis in the rat. *J Leuk Biol*. 1986;39(1):37-48.
11. Pithon-Curi TC, Pires de Melo M, De Azevedo R, Zorn TMT, Curi R. Glutamine utilization by rat neutrophils. Presence of phosphate-dependent glutaminase. *Am J Physiol Cell Physiol*. 1997;273(42):C1124-9.
12. Barriga C, Pedrera MI, Maynar M, Maynar J, Ortega E. Effect of submaximal physical exercise performed by sedentary men and women on some parameters of the immune system. *Rev Esp Fisiol*. 1993;49(2):79-86.
13. Brenner I, Shek PN, Zamecnik J, Shephard RJ. Stress hormones and the immunological responses to heat and exercise. *Int S Sports Med*. 1998;19(2):130-43.
14. McCarthy DA, Dale MM. The leucocytosis of exercise. *Sports Med*. 1988;6(6):333-63.
15. Van Furth R, Sluiter W. Distribution of blood monocytes between a marginating and a circulating pool. *J Exp Med*. 1986;163(2):474-9.
16. Woods JA. Exercise and neuroendocrine modulation of macrophage function. *Int J Sports Med*. 2000;21 Suppl 1: S24-30.
17. Forner MA, Barriga C, Rodriguez AB, Ortega E. A study of the role of corticosterone as a mediator in exercise-induced stimulation of murine macrophage phagocytosis. *J Physiol*. 1995;488(3):789-94.
18. Ortega E. Physiology and biochemistry: influence of exercise on phagocytosis. *Int J Sports Med*. 1994;15 Suppl 1:S172-8.
19. Ortega E, Marchena JM, Garcia JJ, Schmidt A, Schulz T, Malpica I, et al. Phagocytic function in cyclists: correlation with catecholamines and cortisol. *J Appl Physiol*. 2001;91(3):1067-72.
20. Ortega E, Barriga C, De la Fuente M. Study of the phagocytic process in neutrophils from elite sportswomen. *Eur J Appl Physiol*. 1993;66(1):37-42.
21. Ortega E, Marchena JM, García JJ, Barriga C, Rodríguez AB. Norepinephrine as mediator in stimulation of phagocytosis induced by moderate exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2005;93: 714-8.