

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN: CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
ESPECIALIZACIÓN EN ACUPUNTURA Y FITOTERAPIA



EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACUPUNTURA EN LOS PUNTOS E-36, PC-6
Y BP-6, SOBRE LEUCOCITOS DE ATLETAS DE NATACION DURANTE EL
PERIODO PRECOMPETITIVO.

IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:

ESPECIALISTA EN ACUPUNTURA Y FITOTERAPIA

PRESENTA

MED. CIR. BERENICE OSORIO MURGUÍA

DIRECTOR

Dr. GERARDO BLANCAS FLORES

ASESOR

Dr. RUBÉN ROMÁN RAMOS

México, D.F. a 29 de Enero 2016.

EL JURADO DESIGNADO POR LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD DE LA UNIDAD IZTAPALAPA APROBÓ LA IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS QUE PRESENTA:

BERENICE OSORIO MURGUÍA

El día 29 de enero de 2016

Sinodales:

PRESIDENTE:

Dr. JOSÉ FEDERICO RIVAS
VILCHIS

SECRETARIO:

Dr. RUBÉN ROMÁN RAMOS

VOCAL:

Dra. MARIA DE LOS ÁNGELES FORTIS
BARRERA

COMITÉ TUTORIAL

DIRECTOR DE LA IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

Dr. GERARDO BLANCAS FLORES

Profesor Asociado D Tiempo completo

Departamento de Ciencias de la Salud

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Unidad Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana

ASESOR DE LA IDÓNEA COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

Dr. RUBÉN ROMÁN RAMOS

Profesor Titular C de Tiempo Completo

Departamento de Ciencias de la Salud

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Unidad Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana

La presente investigación se realizó en:

El Laboratorio de Farmacología del Departamento de Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Unidad Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana, en colaboración con la Alberca Olímpica Francisco Márquez, Complejo Deportivo Juan de la Barrera. Delegación Benito Juárez, Distrito Federal.

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS:

Dedico este trabajo a mi mamá Raquel Murguía Salazar, la cual siempre me apoya en todos mis proyectos de forma incondicional, siempre está conmigo y me impulsa cada día a ser mejor.

También a mis hermanos Eréndira, René, Damián y Yael Osorio Murguía los cuales me apoyan, motivan a dar lo mejor cada día en todo lo que hago.

Agradezco a mi director de tesis Dr. Gerardo Blancas Flores y a mi Asesor Dr. Rubén Román Ramos por el apoyo y las facilidades que me otorgaron al realizar este trabajo.

A la Dra. Tania Banderas por el tiempo dedicado a este trabajo y también agradezco al entrenador Joel Hernández y al atleta Joaquín Quezada de la Alberca Olímpica por las facilidades que me otorgó para realizar mi investigación.

RESUMEN

El efecto de la acupuntura como inmunomodulador se ha estudiado en personas con diversas patologías (asma, cáncer, VIH), en personas sanas sometidas a ejercicio físico agudo y en atletas durante periodos competitivos, pero no en nadadores o en etapa precompetitiva.

En este trabajo se evaluó el efecto de la aplicación de acupuntura en los puntos PC-6, BP-6 y E-36 sobre los leucocitos, éstos como indicadores indirectos de la intensidad del ejercicio durante un periodo de entrenamiento en nadadores máster.

Se diseñó un estudio experimental, de cohorte transversal, aleatorizado y se estudiaron 19 integrantes del equipo de natación de la categoría *máster* de la Alberca Olímpica distribuidos en dos grupos de 9 y 10 individuos. El grupo experimental fue integrado por 3 mujeres y 7 hombres, con un promedio de edad de 27 y 29 años, respectivamente, recibieron acupuntura durante 20 minutos. El grupo control fue integrado por 2 mujeres y 7 hombres, con un promedio de edad de 27.5 y 29.3 años, respectivamente, recibió acupuntura *sham*, durante el mismo tiempo.

Tres muestras de sangre periférica se tomaron a los atletas y se realizaron frotis sanguíneos: basal, pos entrenamiento y pos acupuntura, el porcentaje de las diferentes extirpes celulares se realizó por conteo al microscopio compuesto previa tinción con técnica de *Wright*.

El análisis estadístico mostró una diferencia significativa ($p = 0.049$) en los monocitos, encontrándose una disminución en el conteo del grupo control (*sham*) durante la medición basal. En la intervención acupuntural no encontraron cambios

en neutrófilos y se observó tendencia a un incremento en los basófilos en comparación a los valores basales.

El efecto de los puntos de acupuntura PC-6, E-36 y BP-6 causan una disminución menor de los monocitos y los basófilos con respecto al grupo control.

Palabras clave: acupuntura, nadadores *máster*, leucocitos.

A B S T R A C T

Acupuncture as an immunomodulator has been studied in people with diverse pathologies (asthma, cancer, HIV), or in healthy people undergoing intense physical exercise or competitive athletes during periods, but not in swimmers or persons in a pre-competitive stage.

In this work the effect of the application of acupuncture in PC-6, SP-6 and S-36 points on leukocyte values, they are indirect indicators of exercise intensity was evaluated over a period of training in master swimmers.

An experimental study of cross cohort, randomized, 19 members of the swim team master category of the Olympic pool on two groups of 9 and 10 individuals were studied was designed. The experimental group was composed of 3 women and 7 men with an average age of 27 and 29 years, respectively, and received acupuncture for 20 minutes. The control group was composed of 2 women and 7 men with an average of 27.5 and 29.3 years old, respectively, received sham acupuncture during the same period.

Three peripheral blood samples were taken to athletes and blood smears were performed: baseline, post-training and post acupuncture, the percentage of different type of cell was performed by using the microscope after Wright staining technique.

Statistical analysis showed a significant difference ($p = 0.049$) in monocytes, being a decrease in the count of the control group (sham) during baseline. Acupuncture

intervention in neutrophil changes was not found and an increase trend was observed on basophils compared to control.

The effect of acupuncture points PC-6, SP6 and S-36 cause lesser decrease in monocytes and basophils relative to the control group.

Keywords: acupuncture, *master* swimmers, leukocytes.

PRINCIPALES ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

HHA	Eje hipotálamo hipofisiario adrenal
NK	<i>Natural killer</i>
ACTH	Hormona adrenocorticotropa
GH	Hormona del crecimiento
IL	Interleucina
TNFα	Factor de necrosis tumoral alfa
Ig	Inmunoglobulina
CAM-1	Molécula de adhesión
HBsAg	Anticuerpo de superficie del virus de la hepatitis B
IFNγ	Interferón gamma
PA	Punto de acupuntura
V-18	Punto de acupuntura vejiga 18
PC-6	Punto de acupuntura pericardio 6
Mtch	Medicina tradicional china
BP-6	Punto de acupuntura bazo 6
E-36	Punto de acupuntura estómago 36
IG-14	Punto de acupuntura intestino grueso 14
P-6	Punto de acupuntura pulmón 6
CD+	<i>Cluster of differentiation</i>
ONs	Óxido nítrico sintetasa
ON	Óxido nítrico
VO_{2max}	Volumen de oxígeno máximo
AANR	Atletas de alto rendimiento de natación

ÍNDICE

Resumen.....	6
1. Introducción.....	13
1.1 Adaptaciones inmunológicas al ejercicio.....	15
1.2 Ejercicio y regulación hormonal.....	17
1.3 Citocinas.....	21
1.4 Inmunoglobulinas.....	22
1.5 Funciones de las células blancas.....	23
1.6 Acupuntura y Medicina del Deporte.....	27
1.7 Estrés y Acupuntura.....	29
2. Justificación.....	33
3. Pregunta de investigación.....	34
4. Hipótesis.....	35
5. Objetivos.....	36
6. Material y métodos.....	37
6.1 Tipo y diseño de la investigación.....	37

6.2 Población estudiada.....	37
6.3 Criterios de inclusión.....	37
6.4 Criterios de exclusión y eliminación.....	37
6.5 Variables.....	38
6.6 Procedimiento experimental.....	38
7. Consideraciones éticas y riesgo para los participantes.....	39
8. Financiamiento y conflictos de interés.....	39
9. Resultados.....	40
10. Discusión.....	47
11. Conclusiones.....	48
12. Limitaciones del estudio.....	49
13. Perspectivas.....	50
14. Referencias.....	51
15. Anexos.....	58

1. INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad existe una relación evidente entre el ejercicio físico y la salud. Sin embargo, dentro de la actividad física deportiva influyen muchas variables, las cuales determinan si la práctica de la misma causará un efecto benéfico para el atleta; se sabe que los deportistas de élite entrenan bajo una línea muy delgada entre la salud y la enfermedad, la cual se modifica por el volumen de entrenamiento, la intensidad, el reposo, la nutrición, el estado previo de salud, la carga del mismo entrenamiento entre otras variables metodológicas deportivas.

La fisiología del deporte ha contribuido mucho en la investigación y en el control de las cargas de entrenamiento, basándose en las modificaciones cardiovasculares, respiratorias, sin embargo, con el avance de la medicina y de la bioquímica principalmente, se ha demostrado que hormonas y células o interleucinas, entre otras sustancias del sistema inmune, se modifican por la actividad física y se han incorporado al conjunto de pruebas o marcadores de salud del deportista.

Por lo anterior, el efecto del ejercicio sobre el sistema inmune ha despertado gran interés en el campo de la investigación tomando un auge en los últimos años, como ha sucedido también con el efecto de la administración de diversos extractos de plantas, fármacos y con el empleo de la acupuntura en la prevención de infecciones para este grupo poblacional.

Sobre el uso de la acupuntura como una medida preventiva en atletas existen pocos estudios que avalan su aplicación, sin embargo, se ha utilizado ampliamente para el tratamiento de lesiones. Se han realizado estudios experimentales agudos para analizar el efecto inmunomodulador de la acupuntura en la prevención de infecciones con el objetivo de evitar la disminución en la capacidad física de los deportistas de alto rendimiento. Tanto el estrés como una actividad física de moderada a vigorosa, conducen a la disminución en la capacidad para combatir las infecciones, especialmente respiratorias y gastrointestinales. Todo esto a través del eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA) y la médula adrenal simpática, los cuales inducen una modulación del sistema inmune (Ríos BFG y Nicot BG, 2010). El aumento de la actividad del eje HHA estimula la secreción de córtico esteroides, como el cortisol, procedentes de la corteza adrenal, incrementan los niveles de glucosa en la sangre e inhiben la liberación de interleucinas e interferones, disminuyendo la respuesta de los linfocitos a los agentes invasores, además los esteroides favorecen el retorno de los linfocitos circulantes a los sitios de almacenamiento e inducen la apoptosis (Giraldo y Cols., 2002).

Se ha reportado que una sesión de entrenamiento de 30 minutos tres veces a la semana favorece el aumento de las células asesinas (NK) (Ríos y Nicot., 2010). Nieman y Pedersen (1999) reportaron que la funcionalidad del sistema inmune adquirido no se ve afectada, sin embargo, la inmunidad innata es la que responde de manera diferencial sobre todo en sujetos entrenados, con una tendencia a mejorar la función de las células NK, reduciendo el funcionamiento de

los neutrófilos. Otros autores reportaron que el ejercicio produce un estrés constante, el cual favorece la secreción de cortisol lo que conlleva a una inmunosupresión de los linfocitos T, B y NK (Moncada, 2000; Jácome, 2010).

1.1 Cambios adaptativos en la serie blanca durante el ejercicio.

Durante la actividad física se somete al cuerpo humano a una serie de demandas que son dependientes del tipo, de intensidad y duración del ejercicio, lo cual repercute en la capacidad de respuesta y adaptación del sistema inmune del deportista, repercutiendo en su salud y ésta a su vez, en su rendimiento físico (Aguilar y Cols., 2006).

El ejercicio intenso requiere de una mayor cantidad de contracciones musculares excéntricas induciendo respuestas inflamatorias transitorias en los músculos. Esta inflamación corresponde a micro traumatismos musculares y participa en el proceso de reparación, hipertrofia y angiogénesis muscular secundario al ejercicio. Sin embargo, no todas las consecuencias de la inflamación muscular son benéficas. La repetición de reacciones inflamatorias intensas, provocadas por cargas excesivas diarias de entrenamiento, pueden provocar una afectación inflamatoria local crónica, la cual inducirá una respuesta inflamatoria sistémica de fase aguda en primer lugar, que cuanto más intensa y mantenida a lo largo del tiempo, más altera la capacidad inmune del deportista y puede inducir inmunosupresión a expensas de la disminución de CD4+, aumentando la susceptibilidad a infecciones y poniendo en riesgo la salud (López-Chicharro, 2006) (Figura 1).

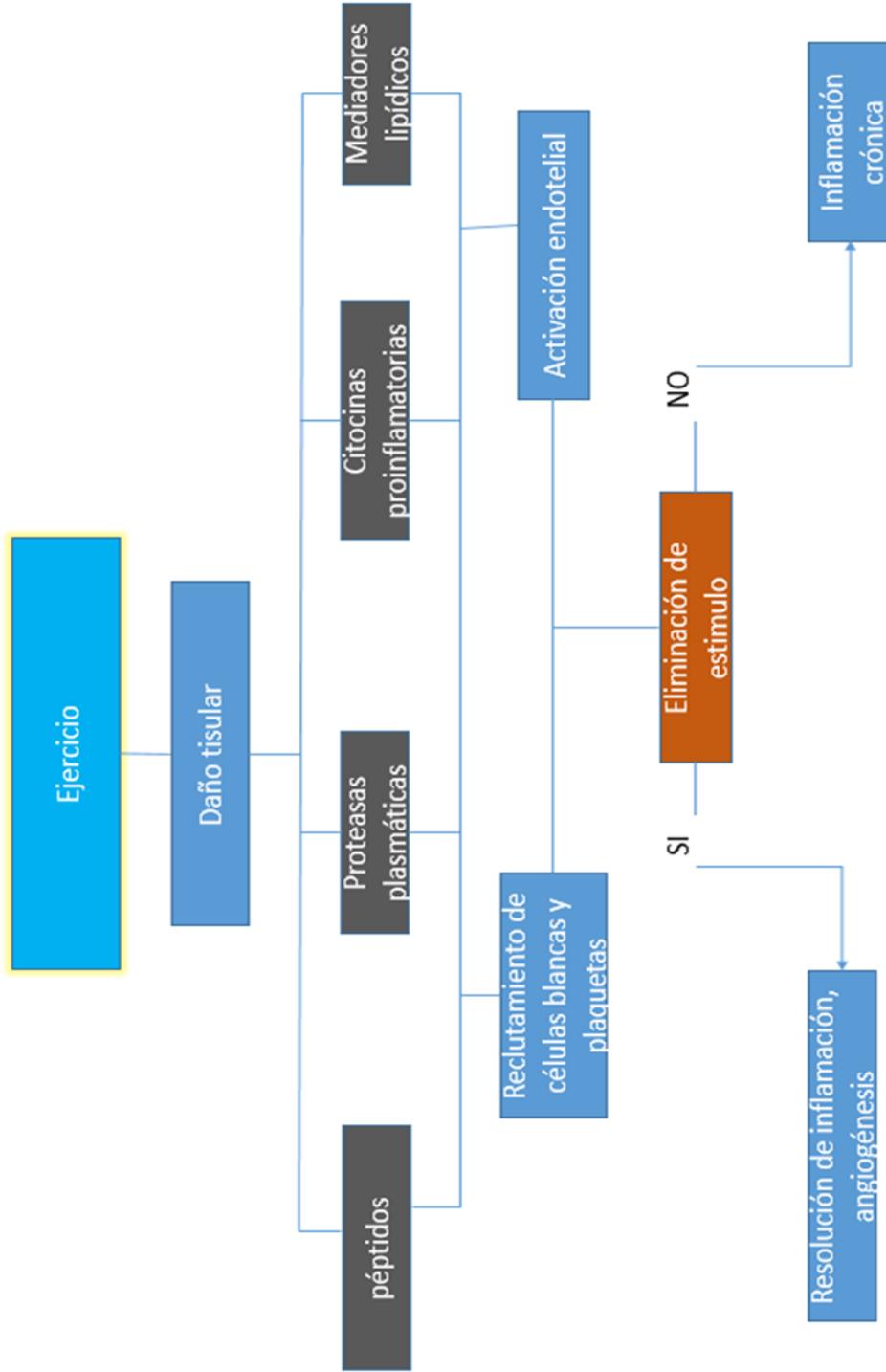


Figura. 1 Efectos del ejercicio

Son numerosos los estudios realizados acerca de la influencia del ejercicio físico sobre el sistema inmune, coincidiendo en que se produce una leucocitosis por el efecto de la adrenalina en un ejercicio de corta duración, sin embargo en ejercicios mantenidos por más de una hora, el cortisol actúa de forma sinérgica. La tasa de leucocitos aumenta hasta cuatro veces y puede mantenerse hasta 24 horas después del ejercicio (López-Chicharro, 2006).

El incremento de los leucocitos afecta notablemente a los neutrófilos, los monocitos y linfocitos, causando un aumento durante el entrenamiento y una disminución posterior al mismo (Aguilar y Cols., 2006).

1.2 Ejercicio e inmunorregulación hormonal

El ejercicio implica la participación de todos los sistemas y órganos del cuerpo humano, la respuesta de adaptación de los sistemas cardiovascular, musculo esquelético, neuroendocrino e inmunológico. Debido a las interacciones complejas entre las secreciones endocrinas y la función del sistema nervioso central, se cuenta con información limitada de la relación de las hormonas y la adaptación con el ejercicio crónico (McArdle y Cols., 2004).

Las neuro-hormonas derivadas del hipotálamo y algunas hormonas de la hipófisis anterior se encuentran involucradas en la modulación de la respuesta inmune durante el estrés físico, tanto la beta endorfina, como la hormona adrenocorticotropa (ACTH), la hormona del crecimiento (GH) y la prolactina han mostrado modulación sobre la actividad de las NK y el incremento de éstas

durante el ejercicio, los niveles de GH y prolactina aumentan durante el ejercicio y esto ha demostrado un incremento de las células linfoides que tienen los receptores hormonales (Jácome, 2010) (Figura 2).

El HHA y el sistema simpático son los encargados de la respuesta al estrés ejercido por el ejercicio físico. El sistema nervioso puede ser modificado por la secreción de citocinas; principalmente las citocinas inflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y las interleucinas 1 y 6 (IL -1, IL-6), hay evidencia de que el ejercicio intenso puede aumentar la incidencia en enfermedades infecciosas y disminución de varios mediadores de la función inmune los cuales repercutirán en la modulación neurohormonal (Aguilar y Cols., 2006).

El entrenamiento de resistencia generalmente disminuye la magnitud de la respuesta hormonal a un nivel estándar de ejercicio. Cuando éste se realiza a la misma intensidad produce una respuesta hormonal menor en las personas entrenadas, sin embargo, el ajuste de la intensidad de ejercicio a un porcentaje de la capacidad máxima de cada persona elimina la variabilidad de la respuesta hormonal relacionada con el ejercicio; por lo que el estrés físico continuo se transformará en crónico, el cual repercute en los niveles de cortisol sanguíneo y el resto de las hormonas relacionadas con el estrés (Shephard y Astrand, 2007) (Figura 3).

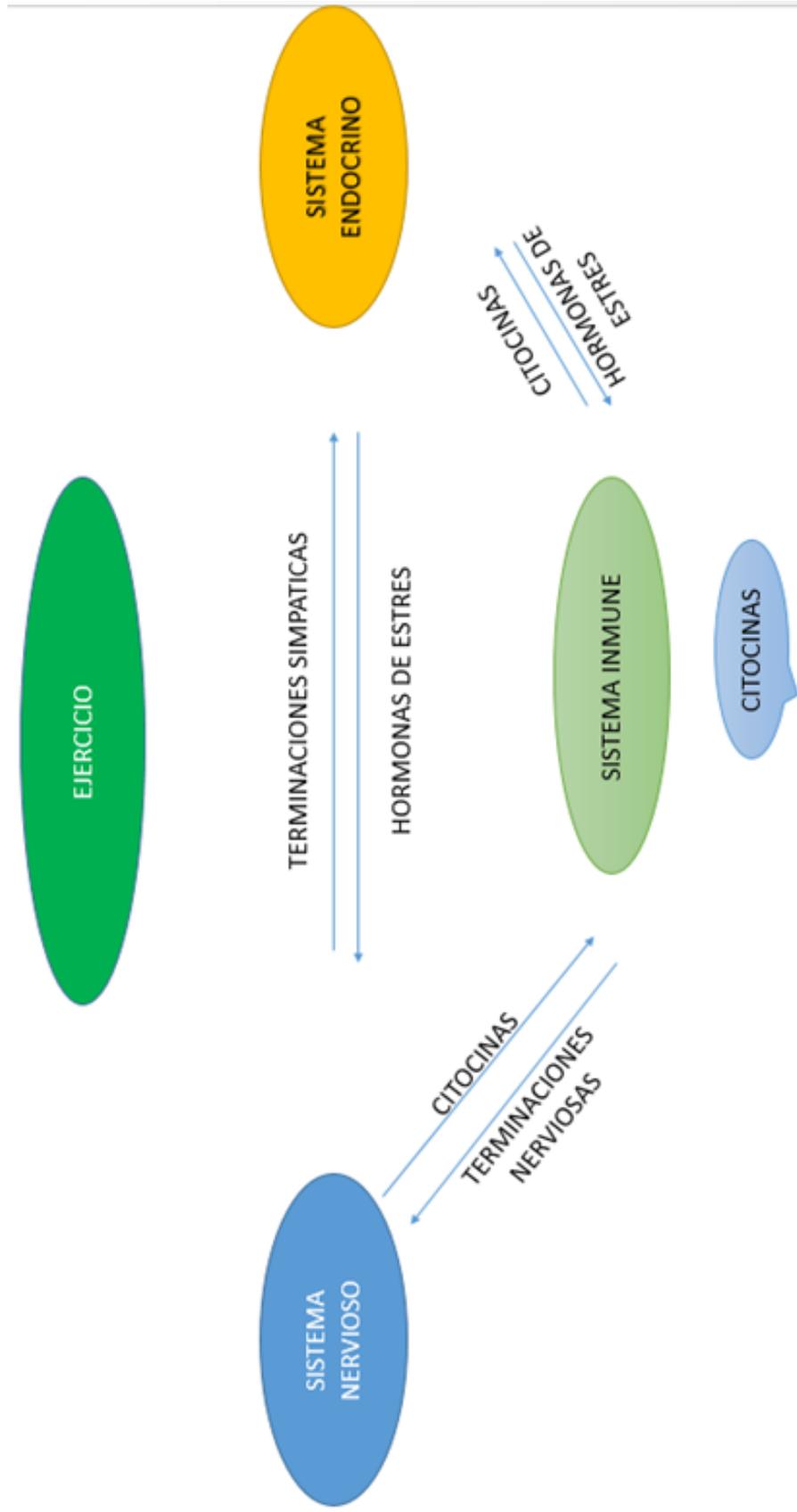
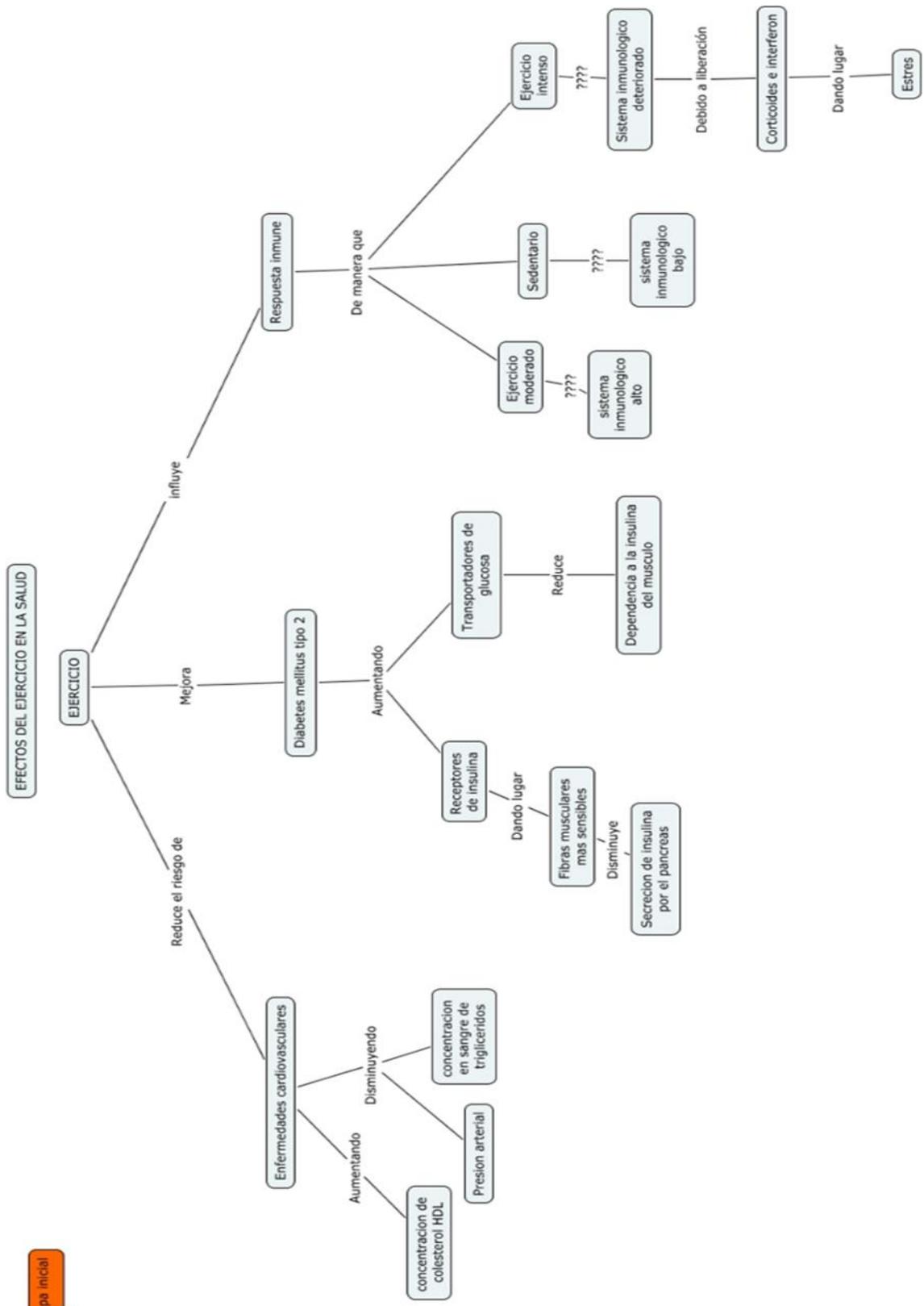


Figura 2. Esquema de los efectos del ejercicio en el sistema nervioso, inmune y endocrino



1.3 Citocinas y respuesta inmune

Las citocinas son responsables en gran parte de la respuesta inmune al ejercicio, son proteínas de bajo peso molecular que median interacciones entre las células involucradas en la respuesta inmune, facilitan el flujo de linfocitos, neutrófilos, monocitos y otras células que participan en la depuración del antígeno y la recuperación del mismo (Jácome, 2010).

Existen varias similitudes entre el ejercicio de alta intensidad y las reacciones inmunes en procesos de inflamación tales como la movilización y la activación de leucocitos, incremento de la producción de proteínas pro inflamatorias, la infiltración celular y el daño tisular, por lo tanto un ejercicio intenso y prolongado aumenta la concentración plasmática de interleucinas (IL) como la IL-1ra, 6, 8 y 10 (Shephard y Astrand, 2007).

La IL-1ra es un inhibidor potente de la IL-1 y un mediador temprano crítico de la respuesta inflamatoria y sistémica. La IL-6 es multifuncional ya que regula la respuesta inmune, la hematopoyesis y la respuesta de fase aguda y la inflamación, así como ejerce efectos antiinflamatorios, induce proteínas de fase aguda y estimula el eje HHA, contribuyendo al mantenimiento de la homeostasis. La IL-8 se clasifica como quimiocina, ya que funciona como proteína quimiotáctica de granulocitos y linfocitos. La IL-10 limita las respuestas inflamatorias inhibiendo la síntesis de muchas citocinas, incluidas la IL-1, 6 y 8. Se ha sugerido que la IL-6 puede estar involucrada en la respuesta de fase aguda pos ejercicio, acompañada del aumento del factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF- α) y de la IL-1 beta que

se equilibra simultáneamente con la liberación de los inhibidores de citocinas como la IL-1ra y el receptor de TNF- α y la IL-10. Todos estos cambios son secundarios a la liberación de glucocorticoides y catecolaminas, que alcanzan niveles altos durante el ejercicio intenso y prolongado (Lapertosa, 2009).

1.4 Inmunoglobulinas

El entrenamiento fuerte puede incrementar el riesgo de infección del tracto respiratorio superior, siendo resultado de una reducción de la inmunoglobulina A (IgA) secretora, la cual es el principal mediador de la inmunidad de las mucosas, ésta interfiere con la unión viral a las superficies epiteliales y neutraliza directamente los virus en las células epiteliales, se une a antígenos en la lámina propia de la mucosa y está involucrada en la excreción de antígenos virales hacia la luz a través del epitelio adyacente; la tasa de producción de ésta usualmente cae después de un ejercicio intenso sea breve o de larga duración, sin embargo existen estudios que demuestran que el ejercicio breve e intenso no es suficiente como para suprimir la secreción de IgA (Arranz y Cols., 2006).

El mecanismo de la supresión de la IgA durante el ejercicio aún es incierto pero se atribuye a cambios del transporte de moléculas a través de la mucosa, alternativamente se encuentra la vasoconstricción mediada por el sistema simpático en la submucosa oral puede reducir la migración de las células que sintetizan y secretan la IgA. A pesar de la inmunosupresión aguda pos ejercicio, se ha encontrado un ligero aumento en todas las inmunoglobulinas en una fase

pre-ejercicio tras un entrenamiento de 12 semanas (Akimoto, 2003; Arranz y Cols., 2006).

1.5 Función de las células blancas

Neutrófilos

Constituyen el 60 a 70% del total de la población de leucocitos.

Los neutrófilos son unas de las primeras células que aparecen en infecciones bacterianas agudas. Los gránulos específicos contienen varias enzimas y agentes farmacológicos que ayudan al neutrófilo a llevar a cabo sus funciones antimicrobianas. Los neutrófilos interactúan con agentes quimiotácticos para migrar a los sitios invadidos por microorganismos. Para ello penetran en vénulas poscapilares en la región de inflamación y se adhieren a las diversas moléculas de selectina de células endoteliales de estos vasos a través de sus receptores de selectina. A medida que los neutrófilos desaceleran sus migraciones, la IL-1 y el TNF inducen a las células endoteliales para que expresen moléculas de adherencia intercelular tipo1 (ICAM-1), a las cuales se unen con avidéz las moléculas de integrina de los neutrófilos. Los neutrófilos penetran en el compartimiento de tejido conectivo y destruyen los microorganismos mediante fagocitosis y la liberación de enzimas hidrolíticas. Mediante la elaboración y liberación de leucotrienos, los neutrófilos ayudan a iniciar el proceso inflamatorio (Arranz y Cols., 2006; Córdova MA., 2009; Johnsdottir, 1999; Akimoto, 2003; Muñoz, 2004; Sánchez y Cols., 2006; Sánchez y Cols., 2007; Silverio-Lopes y Goncalves, 2013).

Eosinófilos

Constituyen menos del 4% de la población total de glóbulos blancos, se producen en la médula ósea y su interleucina 5 (IL-5) es la que origina la proliferación de sus precursores y su diferenciación en células maduras. Funciones de los eosinófilos. La unión de histamina, leucotrienos y factor quimiotáctico de eosinófilos (liberado por células cebadas, basófilos y neutrófilos) a receptores del plasmalema del eosinófilo propicia la migración de eosinófilos al sitio de reacciones alérgicas e inflamatorias o de invasión de gusanos parasitarios., además liberan sustancias que inactivan a los iniciadores farmacológicos de la reacción inflamatoria, como histamina y leucotrienos C; o engloban complejos de antígeno-anticuerpo. (Arranz y Cols., 2006; Córdova MA., 2009; Johnsdottir, 1999; Akimoto, 2003; Sánchez y Cols., 2007; Silverio-Lopes y Goncalves, 2013).

Basófilos

Constituyen menos del 1% de la población total de leucocitos, tienen varios receptores de superficie en su plasmalema, incluidos los receptores de inmunoglobina E (IgE). Funciones del basófilo. La unión de antígenos a las moléculas de IgE, además, actúan fosfolipasa en ciertos fosfolípidos del plasmalema del basófilo para formar ácidos araquidónicos. La liberación de histamina causa vasoconstricción, contracción de músculo liso (en el árbol bronquial) y permeabilidad de vasos sanguíneos y los leucotrienos tienen efectos similares, pero estas acciones son más lentas y persistentes que las reacciones

con la histamina. (Arranz y Cols., 2006; Córdova MA., 2009; Johnsdottir, 1999; Sánchez y Cols., 2007; Silverio-Lopes y Goncalves, 2013)

Linfocitos

Constituyen el 20 a 25% del total de la población circulante de leucocitos, pueden subdividirse en tres categorías funcionales, esto es, linfocitos B (células B), linfocitos T (células T) y células nulas. En general, las células B se encargan del sistema inmunitario de reacción humoral, mientras que las células T tienen a su cargo el sistema de mediación celular. Después de la estimulación por un antígeno específico, proliferan tanto las células B como las T y se diferencian en dos subpoblaciones: Células de memoria, que no participan en la reacción inmunitaria pero permanecen como parte de la clona con una “memoria inmunológica” y células efectoras, que pueden clasificarse como células B y células T ,las células B tienen a su cargo el sistema inmunitario de mediación humoral; se diferencian en células plasmáticas, que producen anticuerpos contra antígenos. Las células T se encargan del sistema inmunitario de mediación celular. Algunas células T se diferencian en células T citotóxicas (células T asesinas), que establecen contacto físico con células extrañas o alteradas viralmente y las destruyen. Ciertas células T tienen como función el inicio y desarrollo (células T colaboradoras) o la supresión (células T supresoras) de la mayor parte de las reacciones inmunitarias de mediación humoral y celular. Para ello liberan moléculas de señalamiento conocidas como citocinas (linfocinas).

Células nulas. Están compuestas por dos poblaciones distintas: Células madre circundantes, de las que proceden todos los elementos formes de la sangre y células asesinas (**NK**), que pueden destruir algunas células extrañas y viralmente alteradas sin la influencia del timo o de células T (Arranz y Cols., 2006; Córdova MA., 2009; Johnsdottir, 1999; Akimoto, 2003; Muñoz, 2004; Sánchez y Cols., 2006; Sánchez y Cols., 2007).

La carga de ejercicio agudo resulta en un aumento de la concentración y la actividad de las NK en la sangre periférica, esto varía según el tipo y la intensidad del ejercicio, generalmente estos cambios se ven en un ejercicio moderado como intenso, seguido el último de una inmunosupresión (Akimoto, 2003).

Macrófagos.

La función de los macrófagos puede ser mediada tanto por el sistema nervioso central como por HHA, ya que se encuentra una correlación entre los niveles de las hormonas de estrés con las alteraciones de las funciones de estas células, se ha demostrado que el número de macrófagos al igual que el de los linfocitos circulantes se incrementa transitoriamente en un 50-100% en la sangre periférica como respuesta al ejercicio agudo. Cabe resaltar que los efectos del ejercicio en la función de los macrófagos y en otras funciones del sistema inmune, no sólo dependen de las elevaciones hormonales sino también están implicados el daño muscular, el aumento de la temperatura corporal, la disponibilidad de las fuentes energéticas, la endotoxemia sistémica y las alteraciones en la producción

y la sensibilidad de las moléculas autocrinas y paracrinas que cumplen un papel regulador (Silverio-Lopes y Goncalves, 2013).

El ejercicio tiene potentes efectos estimulantes en los macrófagos incluyendo la fagocitosis, la actividad antitumoral, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), de nitrógeno y la quimiotaxis, sin embargo, se ven reducidas la capacidad de presentación de antígenos y la expresión de moléculas de histocompatibilidad tipo II (MHC II) (Johnsdottir, 1999; Akimoto, 2003; Muñoz, 2004; Sánchez y Cols., 2006; Sánchez y Cols., 2007; Silverio-Lopes y Goncalves, 2013).

Mackinnon (2000) y Nieman (1997) sugieren que los atletas que participan en ejercicios de larga duración tienen mayor riesgo de adquirir infecciones de vías respiratorias superiores, manifestándose entre la primera y la segunda semana pos competencia. El sistema inmune de las mucosa también es llamado de primera línea o primera barrera, por lo que se secretan las inmunoglobulinas como la IgA, ésta es la predominante en aparecer en las secreciones de las mucosas y la más estudiada, ésta también se ve disminuida en pos ejercicio crónico de alta intensidad y durante varias horas (Carrasco y Cols., 2010).

Bonilla (2005) refiere que la funcionalidad del sistema inmune adquirido no se ve muy afectada, pero la inmunidad innata es la que responde de manera diferencial sobre todo en pacientes con entrenamiento, con una tendencia a mejorar la función de las NK mientras que suprime o reduce el funcionamiento de los neutrófilos.

Mantener los valores normales de todos estos tipos celulares es muy importantes para mantener la salud del atleta.

1.6 Acupuntura y medicina del deporte

La mayor parte de la aplicación de la medicina del deporte en atletas élite se enfoca a una medicina asistencial, pocas veces preventiva o investigativa, por lo que es necesario demostrar que la actividad médica integra todos los niveles del modelo de Leavell y Clark (Vignolo y Cols., 2011), la acupuntura disminuye la incidencia del síndrome de fatiga crónica mejorando las alteraciones inmunológicas. Aunque existen pocos estudios sobre acupuntura, ejercicio y sistema inmune, sin embargo si hay estudios sobre estos aspectos en el ámbito de ejercicio agudo como factor estresante y el uso de la acupuntura como inmunomoduladora.

Yu y Cols. (1997) reportaron que la aplicación de acupuntura en el punto estómago 36 (E-36) favorece la modulación de la función inmune de las moléculas de adhesión (CAM-1), así como un incremento de la actividad citotóxica de NK esplénicos, mediante el aumento de IL-2 e interferón gamma (IFN- γ).

Yamaguchi y Cols. (1999) aplicaron acupuntura en una sola ocasión en los puntos V-18, 20 y 23, así como E-36, estimulación de 5 segundos. La aplicación de acupuntura moduló la concentración de linfocitos o granulocitos de acuerdo a

la célula que predomine y modificó la actividad de las células NK. Este efecto se conservó durante 8 días.

Akimoto (2003) realizó un estudio en atletas de alto rendimiento, jugadores de futbol soccer, a los cuales aplicó acupuntura (E-36, IG-4, P-6), durante el periodo competitivo, midiendo IgA salival y cortisol, encontrando una regulación de los niveles de esta inmunoglobulina y disminución del cortisol, siendo este el único estudio realizado en atletas en los últimos 10 años (Jácome, 2010). Johnston y Cols. (2011) reportaron que el uso de E-36, PC-6 e IG-4 aumenta la actividad tumoral de las NK, así como la secreción de IL-2 y de INF- γ , la expresión en el receptor CD-9⁺ de las mismas células, la proteincinasa y la molécula de adhesión CAM-1.

Jin-Woong y Cols. (2010) realizaron un estudio de revisión de los artículos que reportan la aplicación de acupuntura en el control del cortisol, encontrando resultados que apoyan la disminución del cortisol con acupuntura.

Silverio-Lopes y Goncalvez (2013) realizaron un estudio de revisión de acupuntura y sistema inmune del 2001 al 2011, en el cual evalúan la acupuntura como inmunomoduladora y reportaron que el punto más usado es E-36 seguido de IG-4. Hay resultados controversiales en el incremento o disminución de células inmunes, sin embargo hay reportes que apoyan el incremento de la IgA y la disminución del cortisol como efecto de la acupuntura (Yun-KycBPung y Cols., 2007; Takahashi y Cols., 2009).

Zhen C y Yan J (2012) Aplicaron moxibustion en E-36 y VC12 o VC12 y BP-6 en corredores de largas distancias, midieron la expresión de RNAm de los leucocitos antes y después del entrenamiento, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los grupos con diferente tratamiento, pero si una disminución de la expresión en comparación con el grupo control, lo cual regula el desequilibrio de linfocitos TH 1 y 2.

1.7 Estrés y acupuntura

La acupuntura ocupa dos niveles principales de acción general, el primero metamérico-medular y el otro cortical durante el proceso de analgesia. A nivel central al haber un estímulo doloroso será transmitido mediante serotonina, ácido gamma aminobutírico (GABA), la sustancia P y la noradrenalina. La vía serotoninérgica en el rafe dorsal representa un rol importante en la analgesia mediante electroacupuntura, dichos efectos son antagonizados por dopamina y noradrenalina.

La aplicación de estímulos de acupuntura y electroacupuntura implican una interacción compleja de los opioides endógenos con la sustancia P, la acetilcolina, serotonina y el GABA; la acupuntura estimula terminaciones nerviosas que alteran las vías espinales segmentarias y suprasegmentarias, causando cambios a nivel cerebral y cortical y en todo el eje neural.

Estímulos de baja frecuencia y alta intensidad eléctrica causará la liberación de beta- endorfinas y ACTH a nivel del hipotálamo-hipofisiario, mientras que el cerebro medio y la médula espinal solo aparecen encefalinas. El estímulo a

baja frecuencia genera liberación de endorfinas a nivel central y la activación de neuronas dinorfinérgicas interactuando con los receptores opioides μ y σ del SNC activando el núcleo arcuato del hipotálamo, el asta dorsal de la médula (Reyes, 2009; Jiménez, 2013; Collazo E, 2012), (Figura 4).

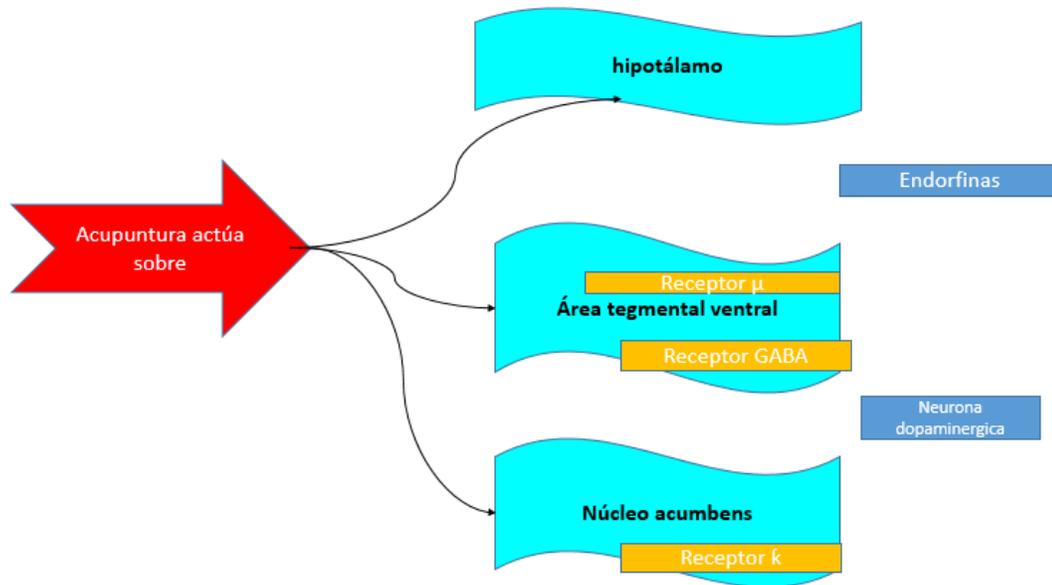


Figura 4. Representación esquemática del efecto de la acupuntura en el sistema nervioso central.

Por ejemplo, la estimulación de E-36 activa neurotransmisores en el cerebro al introducir la aguja en la piel del sujeto, el queratinocito secretará óxido nítrico sintetasa (ONs), la cual formará óxido nítrico (ON) que es un neurotransmisor enviando las señales por la vías de la médula espinal al cerebro, de forma simultánea el ON puede estimular a las NK induciendo un incremento de las mismas y de su actividad; en el cerebro el estímulo del punto de acupuntura mandará señales cerebelo-cerebrales, en especial al sistema límbico, con efecto en la parte central, lo que causará una regulación del sistema inmune mediante el eje HHA (Robayo y Cols., 2011). Mediante la acupuntura se estimulará la

secreción de opioides endógenos (beta endorfinas), éstas viajan vía sanguínea del cerebro a las células inmunitarias. Esto se realizará mediante una comunicación cruda entre las beta endorfinas y los receptores para opioides de las células NK, estimulando la actividad de las células de adhesión, Factor de necrosis tumoral gama ($\text{TNF-}\gamma$), citocinas (IL-2), lo que explica la variabilidad de aproximadamente 2-18% de los linfocitos en la sangre periférica humana (Cassanueva, 1990).

2. JUSTIFICACIÓN

La acupuntura se ha usado en patologías como el síndrome de *Burnard* (estrés crónico) con excelentes resultados, sin embargo hay poca investigación acerca del uso de la acupuntura en deportistas como medida preventiva del estrés. Se han realizado estudios relacionados con el objetivo de mejorar el rendimiento de los atletas mediante el uso de diferentes actividades incluyendo el uso de suplementos alimenticios; sin embargo, no se cuenta con suficiente información del efecto de la acupuntura sobre la cantidad de leucocitos en el deporte a excepción de fútbol, en el cual se cuenta con un solo estudio y maratón.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Puede la acupuntura aplicada en los puntos E-36, PC-6 y BP-6 modificar los porcentajes de leucocitos en nadadores du ante el periodo precompetitivo?

4. HIPÓTESIS

La acupuntura aplicada en los puntos E-36, PC-6 y BP-6 modificará los porcentajes de leucocitos en nadadores durante el periodo precompetitivo.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la acupuntura aplicada en los puntos E-36, PC-6 y BP-6, en la modificación del porcentaje de cada extirpe leucocitaria en atletas de alto rendimiento de natación (AARN) durante el periodo precompetitivo.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.2.1. Determinar los cambios en el recuento de los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) en AARN sometidos a acupuntura.

5.2.2. Determinar los cambios en el recuento de los agranulocitos (linfocitos y monocitos) en AARN sometidos a acupuntura.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio de tipo experimental, de cohorte transversal, aleatorizado y comparativo en la alberca olímpica “Francisco Márquez” y en el Laboratorio de Farmacología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, en el Distrito Federal.

6.2 Población de estudio

Se estudiaron 19 atletas de alto rendimiento (voluntarios) (5 mujeres y 14 hombres).

6.3 Criterios de inclusión

Hombres y mujeres entre 18 y 40 años de edad, clínicamente sanos, que no estuvieran en tratamiento médico o con acupuntura en la última semana, pertenecientes a la categoría *máster* y que no consumieran algún tipo de suplemento alimenticio con *Echinacea purpurea* y sin toxicomanía alguna, tabaquismo o alcoholismo.

6.4 Criterios de exclusión y eliminación

Todos aquellos pacientes que se enfermaron durante el estudio (infecciones, alergias, etc.), aquellos que ya no quisieron seguir participando en el

estudio o faltaron a alguna medición, así como aquellos con alguna reacción alérgica al oro, plata o acero inoxidable se eliminaron del estudio.

6.5 Variables

Leucocitos, acupuntura bilateral (grupo experimental) y acupuntura *sham* (grupo control).

6.6 Diseño experimental

Se realizaron dos invitaciones a la población (abril y agosto) en forma directa para captar candidatos que quisieran participar en el estudio.

Previa realización de la historia clínica y la firma del consentimiento informado, se procedió de forma aleatoria a formar los grupos de estudio: grupo control (*sham*) y grupo experimental (acupuntura bilateral), posteriormente se realizó la toma del frotis sanguíneo basal y pos entrenamiento (anexo 3) previa asepsia y antisepsia.

La aplicación de acupuntura bilateral al grupo experimental fue realizada en los días subsecuentes, una hora previa al entrenamiento, se procedió a la localización de los puntos E-36, PC-6 y BP-6, los cuales se estimularon hasta la sensación de De Qi 4 veces cada 5 minutos (Fundamentos de Acupuntura y Moxibustión de la República Popular China, 2013).

A los integrantes del grupo control (*sham*) se les colocó una almohadilla de esponja de 8 mm de espesor en cada uno los puntos mencionados y posteriormente en ellas se procedió a la colocación de las agujas, las cuales se estimularon 4 veces cada 5 minutos.

El manejo fue el mismo para todos los sujetos y al terminar el entrenamiento pos intervención se tomó el tercer frotis sanguíneo en el portaobjetos correspondiente.

Las laminillas se guardaron en un porta-laminillas y se procesaron en el laboratorio de Farmacología de la UAM Iztapalapa. Las muestras se tiñeron mediante la técnica *Wright* (anexo 4). El conteo celular para cada línea -linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos y monocitos- se realizó en un microscopio óptico con el objetivo 100x y aceite de inmersión.

6.6 Análisis estadístico

El software NCSS (v. 2009) se utilizó para crear la base de datos. Los datos fueron reportados con la media más menos su desviación estándar y las pruebas de hipótesis se realizaron mediante *t-Student* para la comparación intra-grupo y ANOVA de una vía para la comparación entre grupos. La significancia fue $p < 0.05$.

7. Consideraciones éticas y riesgo para los participantes

Se cumplió con la legislación mexicana y las recomendaciones internacionales aplicables (Declaration of Helsinki, 2008). Se tomaron en cuenta las normas oficiales mexicanas pertinentes a la práctica médica (NOM-007-SSA3-2011, NOM-012-SSA3-2012).

Los sujetos en estudio fueron competentes desde el punto de vista legal para otorgar su consentimiento informado para participar en la investigación.

Los sujetos en estudio no recibieron recompensa ni fueron coaccionados de manera alguna para participar en la investigación.

El riesgo para los participantes fue nulo, se usó alcohol para la asepsia en el procedimiento de toma de la muestra sanguínea y la aplicación de acupuntura.

Los investigadores participantes cuentan con licencia de la Dirección General de Profesiones de la Secretaría de Educación Pública de México para realizar las intervenciones propuestas en esta investigación.

6.8. Financiamiento y conflicto de intereses

Los costos de la investigación fueron subvencionados por la Universidad Autónoma Metropolitana y algunos de ellos por los investigadores responsables.

Los investigadores responsables declaran que no existen conflictos de interés relacionados con esta investigación.

9. RESULTADOS

Se estudiaron 19 atletas del equipo nacional de natación de la categoría máster (compuesto por 30 atletas), cinco mujeres de 27.6 ± 3.46 años de edad; y 14 varones de 29.14 ± 7.27 años de edad a los cuales se les distribuyó de manera aleatoria en dos grupos: control (*sham*) y experimental (acupuntura bilateral). En la tabla 1 se presentan los datos antropométricos, el grupo control quedó conformado por 7 hombres y dos mujeres y el grupo experimental por 7 hombres y tres mujeres, por lo que no se encuentran resultados significativos con respecto al género.

El promedio de edad fue de 27 años para el grupo control (*sham*) de 28.7 años para el grupo experimental (acupuntura bilateral), sin encontrar diferencias significativas ($p= 0.98$) entre grupos.

Con respecto a la carga de entrenamiento no se encontraron diferencias significativas entre hombres y mujeres con respecto al tiempo de entrenamiento en años (13.2 ± 10.7 vs 13.2 ± 11.36 , respectivamente) y las horas de entrenamiento a la semana (13.25 ± 3.53 vs. 8.4 ± 1.81 , respectivamente) (Tabla 1).

TABLA 1. Características antropométricas y de carga de entrenamiento por género de los nadadores de la categoría <i>máster</i> que integraron el estudio.		
	Hombres	Mujeres
Edad (años)	29.14± 7.27	27.6± 3.46
Peso (Kg)	71.64± 8.9	57± 4.0
Estatura (cm)	172.2± 5.25	153.8± 3
Horas de entrenamiento a la semana	13.25± 3.53	8.4± 1.81
Tiempo de entrenamiento (años)	13.21± 10.7	13.2± 11.36
Datos obtenidos abril y agosto 2015 en Alberca Olímpica, n=19		

El análisis estadístico mostró una diferencia significativa ($p= 0.049$) en los monocitos, encontrándose una disminución en el conteo del grupo control (*sham*) durante la medición basal. En la intervención acupuntural se encontraron cambios en neutrófilos ($p= 0.023$) y se observó tendencia a significancia en los basófilos ($p= 0.065$) con un incremento en comparación al basal, el resto de las líneas celulares predominantes (linfocitos) no muestran cambios estadísticamente significativos (Tablas 2 y 3).

TABLA 2. Efecto de la aplicación de acupuntura *sham* en los puntos E-36, PC-6, BP-6 en nadadores de la categoría *máster* durante el periodo pre competitivo (grupo control).

Células en %	Basal	Pos entrenamiento	p
Linfocitos	65± 12.7	64.7± 10	0.971703
Neutrófilos	27.5± 12.2	28.5± 11	0.907775
Eosinófilos	1± 1.41	0.52± 1	0.609064
Basófilos	5.5± 3.87	6.3± 3	0.763850
Monocitos	1± 0.81	0	0.049825*

*Datos obtenidos en porcentaje (%) n=9, p ≤ 0.05 prueba t -Student comparación intra grupo

TABLA 3. Efecto de la aplicación de acupuntura bilateral en los puntos E-36, PC-6, BP-6 en nadadores de la categoría *máster* durante el periodo pre competitivo (grupo experimental).

Células en %	Basal	Pos entrenamiento	p
Linfocitos	63.22± 8.6	55.18± 13.31	0.061460
Neutrófilos	30± 8.7	40.05± 12.9	0.023614*
Eosinófilos	0.6± 0.91	0.67± 0.83	0.820016
Basófilos	5.12± 2.37	3.47± 2.32	0.065008
Monocitos	0.66± 0.89	0.68± 0.82	0.966522

*Datos obtenidos en porcentaje (%) n=10, p ≤ 0.05 prueba t-Student comparación intra grupo.

La diferencia entre las medias de los registros de las líneas celulares se muestran en las tablas 4 y 5. Después de la aplicación de la acupuntura *sham*, únicamente los monocitos disminuyeron significativamente con relación al nivel basal (p= 0.038), lo cual nos habla de la disminución fisiológica pos entrenamiento en los atletas de alto rendimiento del grupo control. En el grupo experimental (acupuntura bilateral), las líneas celulares se mantuvieron sin modificaciones, excepto los neutrófilos que se aumentaron en comparación al grupo control

($p=0.023$), probablemente debido a una mayor susceptibilidad de los neutrófilos a los cambios durante el ejercicio intenso y la aplicación de la acupuntura.

TABLA 4. Efecto de la aplicación de los puntos E-36, PC-6, BP-6 grupo control (*sham*) en nadadores de la categoría *máster* durante periodo pre competitivo (grupo control).

Células en %	Pos entrenamiento	Pos acupuntura	p
Linfocitos	62.5± 5.7	64.7± 10	0.716587
Neutrófilos	25.75± 1.5	28.5± 11	0.640571
Eosinófilos	1± 0	0.52± 1	0.400460
Basófilos	8.5± 3.7	6.3± 3	0.388969
Monocitos	2.5± 1.7	0	0.038803*

*Datos obtenidos en porcentaje (%) n=9, $p \leq 0.05$ prueba t-Student, comparación intra grupo.

TABLA 5. Efecto de la aplicación de los puntos E-36, PC-6, BP-6 acupuntura de forma bilateral en nadadores de la categoría máster durante periodo pre competitivo (grupo control)

Células en %	Pos entrenamiento	Pos acupuntura	p
Linfocitos	55.1± 13.31	56.28± 10	0.800082
Neutrófilos	40.10± 12.95	39.4± 8.05	0.860257
Eosinófilos	0.67± 0.83	0.8±0.77	0.670376
Basófilos	3.47± 2.66	4.75± 2.96	0.199284
Monocitos	0.68± 0.82	0	0.670705

*Datos obtenidos en porcentaje (%) n=10, p≤0.05 prueba t-Student.

En la figura 5 se muestra la diferencia entre grupo control y experimental durante la segunda medición (pos entrenamiento).

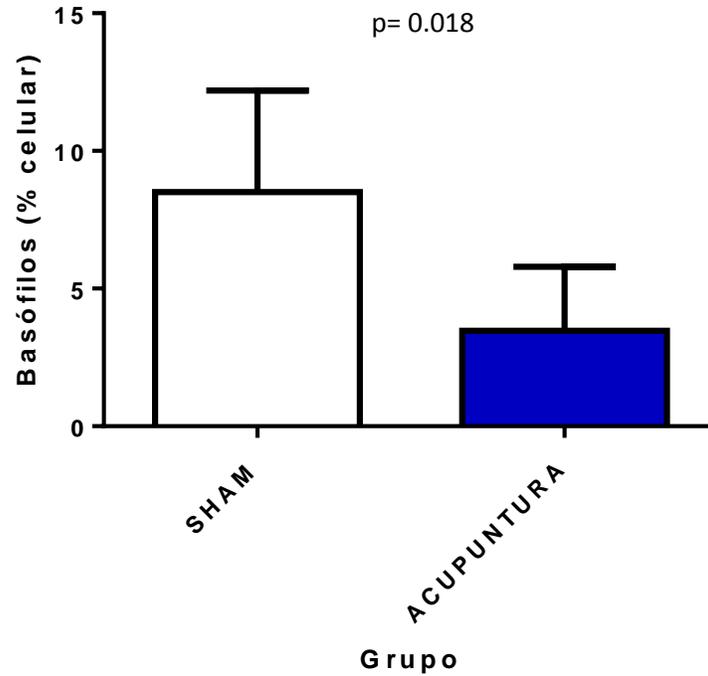


Figura 5. Comparación en el porcentaje de basófilos entre los grupos grupos control y experimental pos entrenamiento en nadadores de la categoría máster pos entrenamiento.

La comparación entre grupos en la segunda cuantificación (pos entrenamiento) de las líneas celulares, sólo se encontró diferencia en los basófilos ($p= 0.018$) mediante ANOVA de una vía con la prueba de Kruskal-Wallis.

10. DISCUSIÓN

El ejercicio intenso requiere de una mayor cantidad de contracciones musculares excéntricas induciendo respuestas inflamatorias transitorias en los músculos. Esta inflamación corresponde a micro traumatismos musculares y participa en el proceso de reparación, hipertrofia y angiogénesis muscular secundarios al ejercicio. Sin embargo, no todas las consecuencias de inflamación muscular son benéficas. La repetición de reacciones inflamatorias intensas, provocadas por cargas diarias excesivas de entrenamiento, pueden causar una afectación inflamatoria local crónica, la cual inducirá una respuesta inflamatoria sistémica de fase aguda en primer lugar, entre más intensa y mantenida a lo largo del tiempo, más altera la capacidad inmune del deportista y puede conducir a situaciones de inmunosupresión, aumentando la susceptibilidad a infecciones y poniendo en riesgo su salud.

A pesar de que existen múltiples estudios de la relación que tienen el ejercicio físico y el sistema inmune, actualmente hay investigadores que reportan que el ejercicio moderado causa una protección contra las infecciones (López-Chicharro y Fernández, 2006), lo que ocasionará una leucocitosis transitoria a expensas de neutrófilos y macrófagos (células fagocíticas) seguida de una leucopenia transitoria a partir de los 30 minutos hasta aproximadamente 72 horas posteriores (Ortega y Cols., 1998; Ferrández y Fuente del Rey, 1998; Córdova, 2009).

Cabe señalar que la leucopenia y las alteraciones inmunológicas son más notorias en una fase de ejercicio agudo extenuante o en un periodo competitivo ya que el estrés juega un papel importante en la liberación de hormonas que modifican las respuestas inmunes nata e innata.

Existen múltiples estudios de acupuntura y modificaciones de la fórmula blanca, con mayor hincapié en las NK, y en las sustancias de activación de los distintos tipos celulares como son IL o inmunoglobulinas, sin embargo, hay poca evidencia de la aplicación de acupuntura durante el ejercicio sobre todo en alto rendimiento para poder determinar la eficacia y el beneficio de la misma a este sector poblacional. Yamaguchi y Cols. (2007) realizaron un estudio en 17 voluntarios sanos a los cuales se les aplicaron acupuntura V-18, V-20, V-23 y E-36 y encontraron una regulación de los granulocitos y los linfocitos en cada sujeto hasta por 8 días. Esto concuerda con nuestros resultados ya que el grupo experimental no presentó una disminución significativa de monocitos con respecto al grupo control a pesar de no ser uno de los grupos celulares de predominio (linfocitos), los neutrófilos persistieron en el grupo de intervención, esto concuerda con lo reportado por Zhen C y Yan J (2012) ellos encontraron que la expresión del RNAm de los linfocitos es menor en los grupos con acupuntura en comparación al grupo control la cual fue mayor, favoreciendo la regulación de las células inmunes.

Aunque los macrófagos-monocitos no son estudiados por muchos autores, como marcadores en primera instancia de la actividad inmune, son células sumamente importantes en el estudio de la influencia de la actividad física sobre

el sistema inmune, puesto que tienen la capacidad de actuar en los dos tipos de inmunidad específica e inespecífica, que el ser humano posee (Ortega y Cols., 1998). El ejercicio estimula la actividad de los monocitos causando una disminución de éstos. Al aplicar acupuntura su número se mantiene la cantidad de los mismos lo cual nos indica que podría influir en una protección frente a antígenos fortaleciendo la primera línea de acción (mucosa, piel y macrófagos extravasculares).

El entrenamiento lleva al sistema inmune a un estado de inflamación aguda secundaria a un micro trauma muscular crónico (Córdova, 2009) y por ende a una linfocitosis y neutrofilia reflejas, las cuales son más notorias durante un periodo competitivo tal y como lo reporta Akimoto (2003) en jugadoras de soccer, mostrando una regulación en los niveles de la IgA y una disminución del cortisol.

En nuestra investigación se encontraron cambios en los neutrófilos, estos se incrementaron en el grupo experimental este resultado es importante ya que este grupo celular es encargado de la fagocitosis y la respuesta frente antígenos bacterianos, mas no para los niveles de linfocitos como ha sido reportado por otros autores. Esto se puede deber a diversos factores ambientales y psicológicos, como ya ha sido reportado por otros autores un aumento del cortisol mantiene la neutropenia y la linfopenia, las cuales también se ven influidas por el efecto de la temperatura ambiental, sobre todo, en deportes acuáticos (Ortega y Cols., 1998; Córdova, 2009; Fuente y Cols., 1998; Ferrández y Fuente del Rey, 1998). Esta es una variable que no fue considerada en nuestra investigación, a pesar de que el agua de las albercas debe estar a una temperatura estándar (24°

- 28°C), puede variar desde los 20° hasta los 30°C. Entre más caliente esté el agua hay mayor aumento de cortisol y por ende un incremento de la respuesta inflamatoria, lo que quizá influyó en nuestros resultados, manteniéndose los niveles basales de linfocitos y neutrófilos, sin embargo monocitos y basófilos presentaron menores descensos en comparación a los niveles bases y los del grupo control.

Otra variable que hay que considerar es que no existe una homologación en el tiempo de aplicación de la acupuntura.

11. CONCLUSIÓN.

La acupuntura aplicada durante el periodo precompetitivo mantiene los niveles de monocitos y aumenta los neutrófilos en comparación al grupo control por lo tanto el incremento de este grupo celular podría estar implicado en la protección de agentes bacterianos.

12. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La cantidad de participantes fue la mínima para un estudio lo cual no permite tener algún indicio de los cambios de las principales líneas celulares (linfocitos) al aplicar acupuntura.

Se estudió una combinación de puntos (E-36, PC-6 y BP-6), lo cual no permite determinar si uno de estos puntos genera mayor cambio en comparación a otro.

13. PERSPECTIVAS

Prolongar el estímulo con acupuntura en los atletas. Medir otro tipo de marcadores biológicos de la respuesta inflamatoria y antiinflamatoria como son interleucinas y su relación con hormonas como cortisol, tiroidea, prolactina entre otras, tomar en cuenta factores ambientales y también estudiar otro tipo de deportes o en poblaciones más amplias.

14. REFERENCIAS

Aguilar LA, Zuluaga ZN, Patiño GPJ y Caraballo GD (2006) Ejercicio y sistema inmune. *Iatreia*. 2: 189-198.

Actividad física. (s.f) recuperado el 10 de octubre de 2014, de <http://www.who.int/dietphysicalactivity/pa/es/>

Akimoto T (2003) Acupuncture and responses of immunologic and endocrine markers during competition. *Medicine and science in sports and exercise*. 1296-1302.

Arranz L, Siboni L y De la Fuente M (2006) Improvement of the interleukin 2 and tumor necrosis factor alpha release by blood leukocytes as well as of plasma cortisol and antioxidant levels after acupuncture treatment in women suffering anxiety. *J. Appl. Biomed*. 4:115-122.

Bonilla BJF. (2005) Respuesta hematológica al ejercicio. *Rev. Cienc. Salud* 2: 206-216.

Carrasco L, Sañudo B, Martínez IC y De Hoyo M (2010) Proteínas de estrés y ejercicio Físico. *Rev. Int. Med. Cienc. Act. Fís. Deporte*. 37: 1-21.

Cassanueva FF (1990) Acute administration of corticosteroids: a new and peculiar stimulus of growth hormone secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 70: 234-237.

Collazo, E. (2006) Fundamentos actuales de la terapia acupuntural. *Rev Soc Esp Dolor*. 6:325-331.

Córdova MA (2009) Adaptaciones inmunológicas. En: Jiménez Díaz José Fernando. Medicina y Fisiología del Ciclismo. España, Nexus Medica Editores. 2-32.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. 2012, ENSANUT. Recuperado 20 de octubre de 2014. ww.insp.gob.mx, 2012.

Ferrández OM y Fuente del Rey M (1998) Estado inmunológico de deportistas de alta competición. Consejo Superior de Deportes 18: 50-98.36.

Fuente M, Río M, Ferrández D, (1998) Cambios en la respuesta inmune por el estrés asociado al ejercicio físico. Consejo Superior de Deportes 18: 66-97.

Fundamentos de Acupuntura y Moxibustión de China, Beijing. Ed. Instituto Latinoamericano de Medicina Oriental. 1ª reimpresión, México 2013. 137, 145, 211.

Giraldo M P, Vázquez G, Ramírez L A y Uribe O (2002) Respuesta inmunológica al ejercicio. Rev. Colombiana de Reumatología 4: 251-261.

Jácome RA (2010) Estrés y enfermedad. Un enfoque psiconeuroendocrino. Rev. Medicina 3: 223-236.

Jiménez GC (2013) Tratamiento con acupuntura en pacientes con síndrome de fatiga crónica. Tesis de investigación clínica aplicada a ciencias de la salud. Universidad Autónoma de Barcelona.

Jin-Woong, Ki-Tae S and Sang-Hoon L (2010) Acupuncture and cortisol Levels: a systematic Review. Journal of Korean Oriental Medicine 6: 21-28.

Johnston MF, Ortiz SE, Vajanovic NL and Li W (2011) Acupuncture May Stimulate Anticancer Immunity via Activation of Natural Killer Cells. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 1-14.

Jonsdottir IH (1999) Physical Exercise, Acupuncture and Immune Function. Acupunct Med. 1: 50-53

Lapertosa DB (2009) Acupuntura na modulação da produção sanguínea. Tesis para especialidad en acupuntura veterinaria, instituto homeopático Jaqueline Peker: 1-22.

López-Chicharro J y Fernández VA (2006) Fisiología del ejercicio. 3ª. Edición. Panamericana Madrid. 295-308.

Mackinnon LT (2000) Chronic exercise training effects on immune function. Med Sci Sports Exerc 7 suppl: 369-76

McArdle W D, Katch FI y Katch LV (2004) Fundamentos de fisiología del ejercicio. 2da edición. Mc Graw-Hill Madrid pp. 359-366.

Moncada JJ (2000) El ejercicio Físico y el Sistema Inmunológico: una revisión de las investigaciones más recientes en este campo. Rev. Educación 1:131-140.

Muñoz SE (2004) Efecto del glicofosfopeptical en la cuenta linfocitaria y en los niveles de inmunoglobulina A en clavadistas de elite durante una etapa de entrenamiento intenso. Tesis de maestría en ciencias de la investigación clínica. IPN, Escuela superior de Medicina.

Nieman DC (1997) Risk of Upper Respiratory Tract Infection in Athletes: An Epidemiologic and Immunologic Perspective. *Journal of Athletic Training* 4: 344-349.

Nieman DC and Pedersen BK (1999) Exercise and immune function. Recent developments. *Sports Med.* 2: 73-80.

Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011, Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.

Ortega E, Rodríguez AB, y Barriga C (1998) Estudio de mediadores hormonales en la estimulación de la respuesta inmune inespecífica de macrófagos inducida por el ejercicio intenso. *Consejo Superior de Deportes* 18:100-121.

Pomeranz B (2001) Acupuncture analgesia; Basic. Research. *Clinical Acupuncture Scientific Basis.* Springer Germany: 120-122.

Reyes SKE (2009) Efecto de la electroacupuntura sobre el estrés valorado con cortisol en funcionarios públicos. Tesis de la especialidad de acupuntura IPN, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía.

Ríos BFG y Nicot BG (2010) Enfermedades Infecciosas y Ejercicio Físico. *Rev. Cubana de Med. Del Dep.* 1: 1-20.

Robayo MP, Ángel MM y Robayo LC (2011) Acupuntura en dermatitis atópica y mecanismos neuroinmunológicos. Actualización. Rev. Fac. Med. 1: 66-73.

Sánchez SM, González GMR, Cos P Y Macías AC (2007) Estrés y Sistema Inmune Rev. Cubana Hematol. Inmunol. Med Transf. : 1-9.

Sánchez SM, González GRM, Marsán SV y Macías AC (2006) Asociación entre el estrés y las enfermedades infecciosas, autoinmunes, neoplásicas y cardiovasculares. Rev. Cubana Hematol. Inmunol. Med Transf. 3:1-9.

Shephard RJ, Astrand PO (2007) Efectos del ejercicio de resistencia. Aspectos clínicos del entrenamiento. Compilador. Barcelona. Paidotribo. 2007. 528-546

Silvério-Lopes S y Goncalves MMP (2013) Acupuncture of Immunity. INTECH <http://dx.doi.org/10.5772/54286>

Takahashi T, Hiroyuki S, Tsugiyasu K and Nobou Y (2009) Acupuncture Modifies Immune Cells. J Exp. Clin. Med, 1: 17-22.

Vignolo J, Vecarezza M, Alvarez C y Sosa A (2011) Niveles de atención, de prevención y atención primaria a la salud. Arch Med Interna XXXIII 1: 11-14.

World Medical Association Declaration of Helsinki (2008) Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects: 1-5

Yamaguchi N, Takahashi T, Sakuma M, Sugita T, Uchikawa K, Sakaiharu S, Kanda T, Arai M and Kawakita K (1999) Acupuncture Regulates Leukocyte

Subpopulations in Human Peripheral Blood. ECAM 2007; 4: 447-453. Jonsdottir, I.
H. Physical Exercise, Acupuncture and Immune Function. Acupunct Med. 1: 50-53

Yu Y, Kashakara T, Sato T, Guo SY, Liu YQ, Asano K and Hisamitsu T
(1997) Enhancement of Splenic Interferon gamma, Interlukin-2, and NK
Citotoxicity by S36 Acupoint Acupuncture in F344 Rats. Japanese Journal of
Physiology. 47:173-178.

Yun-Kyoung Y, Hyun L, Kwon-Eui H, Young-Il K, Byung-Ryul L, Chnag-Gue
S and Joung-Eun K (2007) Electro-acupuncture at acupoint ST36 reduces
inflammation and regulates immune activity in Collagen-Induced Arthritic Mice.
Ecam 1: 51-57

Zhen C y Yan J (2012) Effect of moxibustion pretreatment of Guanyuan (CV
4), etc. on expression of leukocytic T-box transcription factor expressed in T cells
and GATA-3 mRNA in athletes undergoing heavy load training. 2:125-30.

14. ANEXOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

Título del estudio: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACUPUNTURA EN LOS PUNTOS E-36, PC-6 Y BP-6, SOBRE LEUCOCITOS DE NADADORES.

Investigador principal: Especialista en Medicina del Deporte Berenice Osorio

Sede donde se realizó el estudio: UAM IZTAPALAPA Y ALBERCA OLIMPICA FRANCISCO MARQUEZ

Nombre del participante: _____

—

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO. La práctica de ejercicio es considerada un factor benéfico si se realiza moderadamente (Organización Mundial de la Salud y ENSANUT, 2012), ya que se ha comprobado que aumenta los niveles de las células inmunitarias y de los opioides endógenos, dando origen a una sensación de bienestar (Pomeranz, 2001). Sin embargo, al ser realizada de forma extenuante ya sea en forma aguda o crónica, se convierte en un factor estresante, el cual actúa como factor perjudicial para la salud del individuo. Lo anterior se manifestará en un síndrome de estrés en el deportista, lo que llevará a una respuesta de adaptación del sistema cardiovascular, respiratorio, endocrino, nervioso, musculo-esquelético e inmunológico, activando el HHA y el sistema nerviosos simpático, encargados de generar la respuesta de estrés por el ejercicio físico para mantener la homeostasis, sin embargo las cargas de entrenamiento no permiten llegar al equilibrio, lo que conllevará a un incremento de las interleucinas inflamatorias (IL-1 e IL6) lo que se manifestará en una respuesta inflamatoria crónica

La acupuntura se ha usado en patologías como el síndrome de *Burnard* (estrés crónico) con excelentes resultados, sin embargo hay poca investigación acerca del uso de la acupuntura en deportistas como medida preventiva del estrés. Se han realizado estudios relacionados con el

objetivo de mejorar el rendimiento de los atletas mediante el uso de diferentes actividades incluyendo suplementos alimenticios, sin embargo, no se cuenta con suficiente información del efecto de la acupuntura sobre la respuesta inmune prácticamente en ningún tipo de deporte a excepción de fútbol en el cual se cuenta con un solo estudio.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivos:

1. Determinar si la acupuntura aplicada en los puntos E-36, PC-6 y BP-6 modifica los valores de leucocitos, los cuales son las células de defensa del cuerpo ante cualquier infección
2. Conocer de forma general la cantidad de actividad física realizada y su asociación con las sustancias antes mencionadas, así como evaluar el grado de satisfacción que se obtiene con dicha actividad

BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Mantener las células de defensa en parámetros normales.

Disminuir la frecuencia de infecciones respiratorias y/o gastrointestinales.

Disminuir la sensación de la fatiga.

Mejorar la recuperación después de una actividad física

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos y tipo de ejercicio que realiza, se les medirá su peso, se les tomarán dos muestras de saliva durante el estudio, también solicitaremos tres gotas de sangre obtenida de alguno de los dedos de la mano no dominante mediante una lanceta estéril, también se colocará puntos de acupuntura en brazos, piernas y/o espalda (1-3 agujas por región), cabe señalar que solo se realizará en una ocasión y el material es estéril. Lo único que se pedirá es contar con tiempo y acudir a las sesiones para la investigación

RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

Este estudio consta de las siguientes fases:

La primera implica pesarlos, llenar cuestionarios y darles las instrucciones para la primera muestra de saliva y la obtención de la primera muestra de sangre, la cual puede dejar un moretón, dolor o inflamación en el dedo donde se obtenga la muestra.

La segunda parte del estudio consistirá en la aplicación de la acupuntura en los puntos referidos antes, la cual puede causar dolor, inflamación, moretón, sangrado leve, desmayos, sudoración, hipotensión, raras veces puede haber infecciones.

ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, tiene derecho a una indemnización, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio.
- Usted también tiene acceso a las Comisiones de Investigación y Ética de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa en caso de que tenga dudas sobre sus derechos como participante del estudio. Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa a este documento.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante o del padre o tutor Fecha

Testigo Fecha _____

Testigo Fecha _____

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):

He explicado al Sr(a). _____ La naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador Fecha

CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título del protocolo: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACUPUNTURA EN LOS PUNTOS E-36, PC-6 Y BP-6, SOBRE LEUCOCITOS DE NADADORES.

Investigadora principal: Especialista en Medicina del Deporte Berenice Osorio Murguía

Sede donde se realizará el estudio: UAM IZTAPALAPA Y ALBERCA OLIMPICA FRANCISCO MARQUEZ.

Nombre del paciente: _____

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones:

Firma del participante y Fecha

Testigo Fecha _____

Testigo Fecha _____

HISTORIA CLINICA

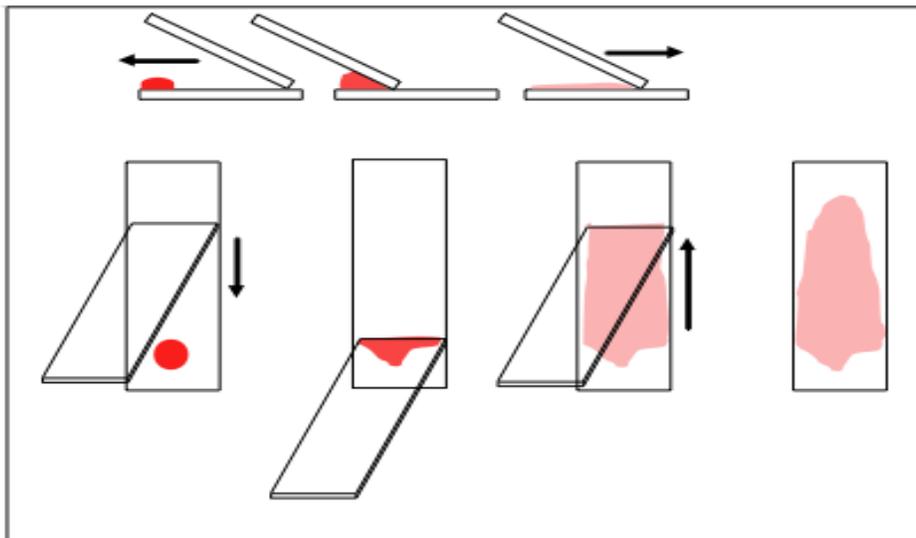
Porque unas en mayúscula y otras en minúscula

otras enfermedades (tipo, especificar tiempo, tratamiento, evolución)	
diabetes	enfermedades reumáticas
asma	lupus eritematoso
enfermedades renales (especificar)	sobrepeso u obesidad
enfermedades de la sangre	enfermedades cardiovasculares
cirugías	sistema nervioso
enfermedades respiratorias	enfermedades musculo esqueléticas
enfermedades de sistema digestivo	enfermedades en la piel
enfermedades odontológicas	enfermedades oftalmológicas usa lente o lente de contacto
alegias: alimentos, medicamentos o insectos	hospitalizaciones
transfusiones	

PESO:	TALLA:	FC:	FR:	T/A	IMC
-------	--------	-----	-----	-----	-----

Frotis sanguíneo por técnica manual.

- a) Colocar una gota de sangre de aproximadamente 2-3 mm de diámetro en un extremo del portaobjetos.
- b) Sostener el portaobjetos extensor (frotadora) con firmeza con la mano dominante a un Angulo de 30-45° y llevar hacia atrás hasta tocar la gota de sangre, dejando que ésta se esparza en todo el ancho del portaobjetos.
- c) Empuja con rapidez y suavidad hacia adelante hasta el final del portaobjetos para crear el extendido. Es importante que toda la gota se incluya en el extendido
- d) Secar el extendido de forma rápida con un ventilador para evitar falsos positivos.



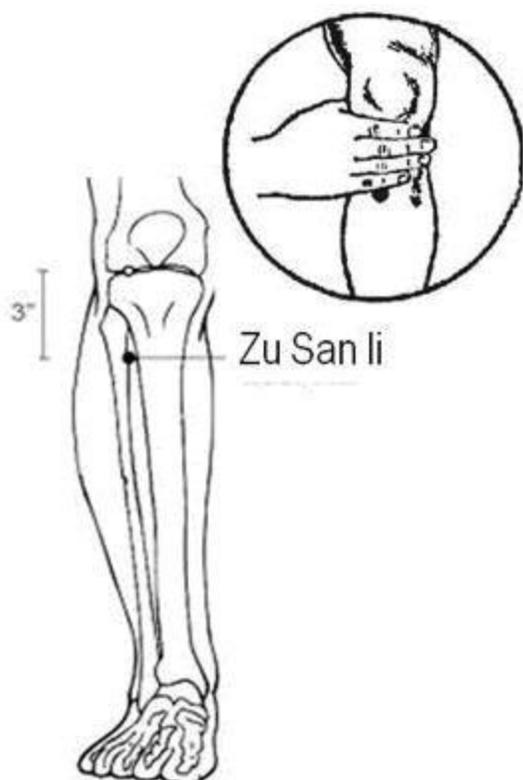
Tinción del frotis sanguíneo (técnica de *Wright*)

- a) Colocar el frotis secado al aire sobre una rejilla o cubeta de tinción con la sangre hacia arriba.
- b) Cubrir completamente el portaobjetos o cubreobjetos con el colorante de *Wright* gota a gota. El colorante deberá cubrir completamente el portaobjetos, pero no debe derramarse por los bordes. Deberá agregarse una cantidad adicional si éste se comienza a evaporar. Dejarlo que permanezca en el frotis aproximadamente de 5-8 minutos.
- c) Agregar directamente al colorante un volumen igual de amortiguador de *Wright*, para evitar la coloración débil. Esperar la formación de brillo metálico. Puede usarse de igual manera agua des ionizada. Dejar actuar de 10-15 minutos.
- d) Lavar con agua en el chorro cuidadosamente hasta que la extensión presente un aspecto rosado al examinarlo a simple vista.
- e) Limpiar el dorso del portaobjetos con una gasa o algodón humedecido en alcohol para eliminar cualquier resto de colorante.
- f) Secar al aire y observar con el microscopio con el objetivo de inmersión.

LOCALIZACION DE LOS PUNTOS DE ACUPUNTURA.

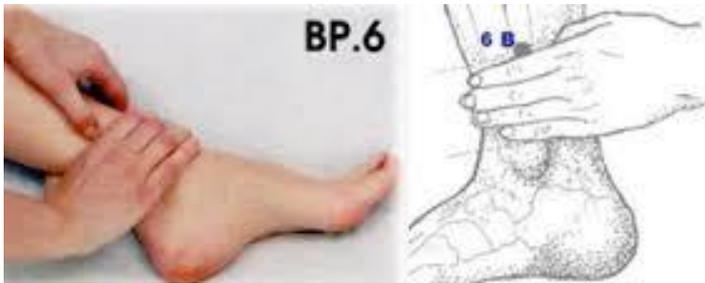
PUNTO ESTOMAGO 36 (E-36)

Se encuentra localizado a 3 pulgadas por debajo del borde inferior de la rótula, entre el musculo tibial anterior y el musculo extensor común de los dedos (Fundamentos de acupuntura y moxibustión de china, 2013).



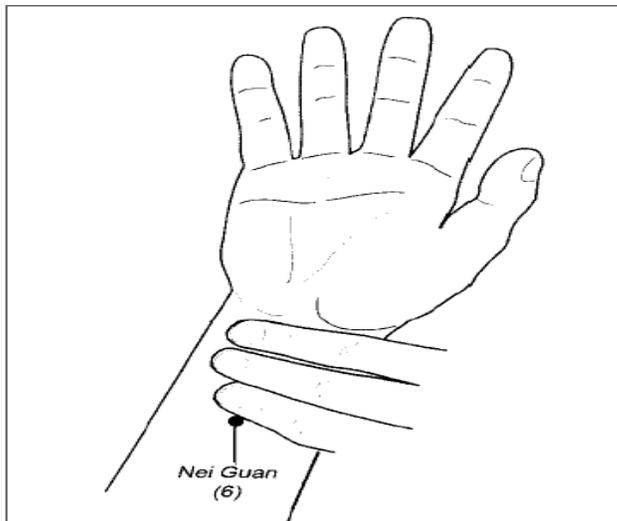
BAZO PÁNCREAS 6 (BP-6)

Se encuentra a tres centímetros por arriba de la punta del maléolo interno, sobre el borde posterior de la tibia, en la misma línea que une al maléolo interno con el punto BP-6. (Fundamentos de acupuntura y moxibustión de china, 2013).



PERICARDIO 6 (PC-6)

Está a 2 cm por arriba del pliegue transversal de la muñeca, entre los tendones del m. palmar largo y el flexor común de los dedos.



Imágenes de frotis.

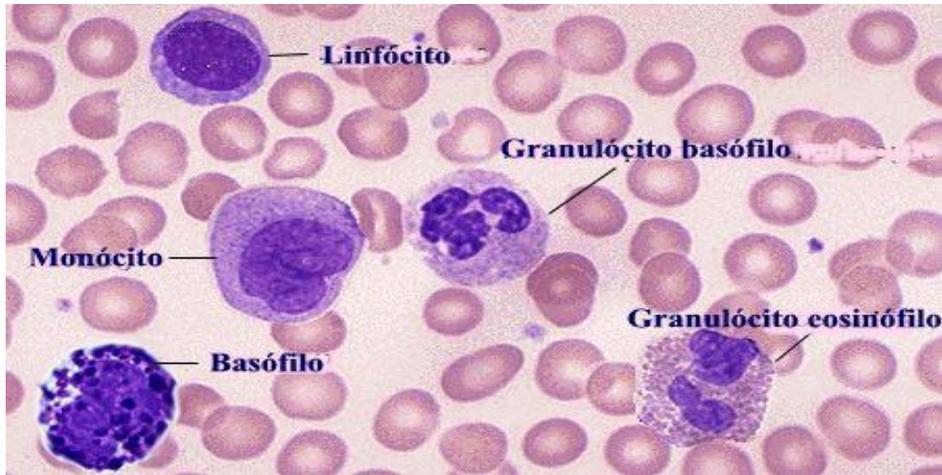


Figura 1. Identificación microscópica de los diferentes tipos.

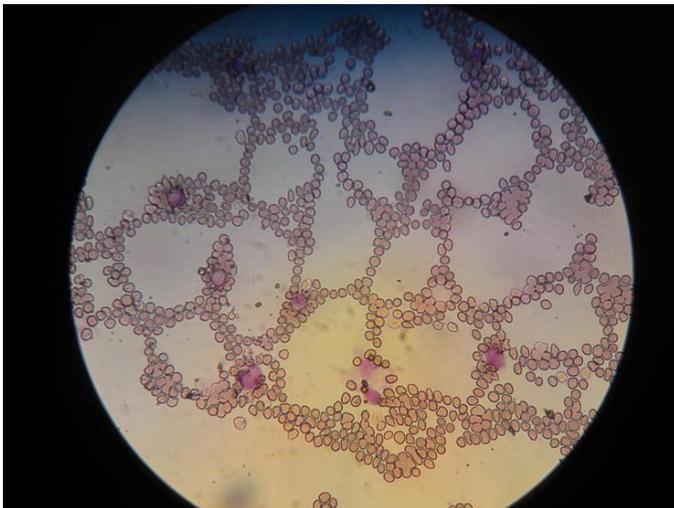
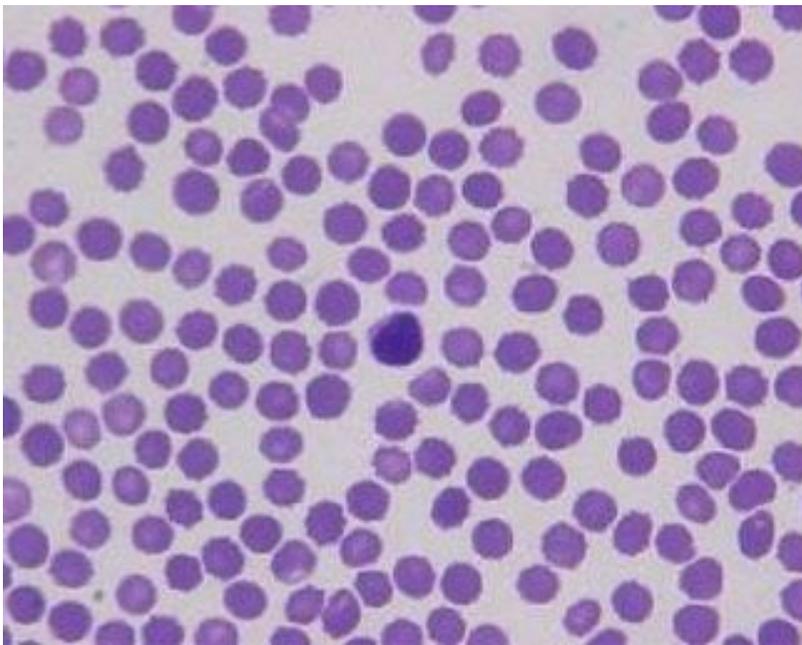


Figura 2. Identificación celular de frotis con tinción *Wright* a 40X en la cual se observan eritrocitos normales y linfocitos.

Figura 3. Frotis sanguíneo con tinción *Wright* a 100x en la cual vemos eritrocitos normales y algunos eosinófilos.



Figura 4. Frotis sanguíneo con tinción *Wright* en la cual vemos equinocitos, eritrocitos normales y un linfocito



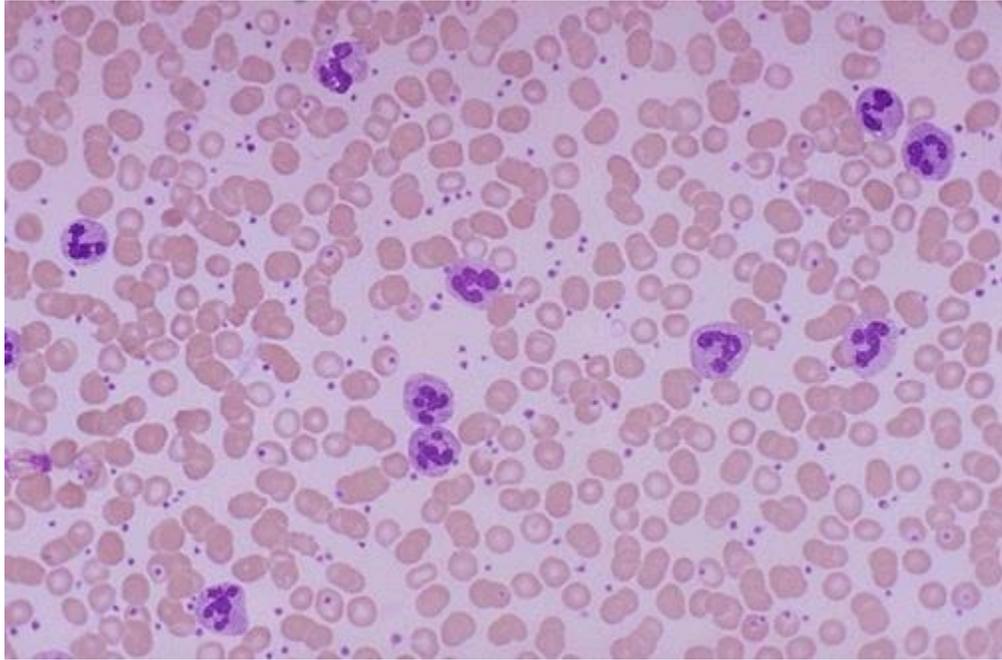


Figura 5. Frotis sanguíneo con tinción de *Wright* en cual se observan eritrocitos normales, plaquetas y neutrófilos multisegmentados.