

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**  
Departamento de Fisiología Animal



**TESIS DOCTORAL**

**Respuestas neuroendocrinas inducidas por la acupuntura en  
el caballo**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**Elena Martínez Gómez**

**Directores**

**Juan Carlos Illera del Portal**  
**Gema Silván Granado**

**Madrid, 2018**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA ANIMAL**



**RESPUESTAS NEUROENDOCRINAS INDUCIDAS POR LA  
ACUPUNTURA EN EL CABALLO**

Memoria para optar al grado de Doctor presentada por

**Elena Martínez Gómez**

Bajo la dirección de los Doctores:

D. Juan Carlos Illera del Portal

Dña. Gema Silván Granado

TESIS DOCTORAL

2017





El Dr. Juan Carlos Illera del Portal, con DNI: 50418501-V, Catedrático de Universidad del Dpto. de Fisiología (Fisiología Animal) y la Dra. Gema Silván Granado, con DNI: 00694050-W, Profesora Titular de Universidad del Dpto. de Fisiología (Fisiología Animal), pertenecientes a la Facultad de Veterinaria de la UCM,

Certifican:

Que la Tesis Doctoral **“Respuestas neuroendocrinas inducidas por la Acupuntura en el caballo”** realizada por Dña. Elena Martínez Gómez, se ha llevado a cabo bajo nuestra dirección y que, tras su revisión, consideramos que es apta para ser presentada ante el tribunal calificador.

Madrid, a 17 de abril de 2017

Los directores de la Tesis

Fdo. Dr. Juan Carlos Illera del Portal

Fdo. Dra. Gema Silván Granado



*A mis padres, siempre.*



Sin la ayuda de Juan Carlos Illera y Gema Silván hubiera sido imposible la realización de esta Tesis. Os agradezco profundamente el apoyo que me habéis prestado desde el inicio de este trabajo.

Me habéis hecho sentir en todo momento vuestra ilusión por mi Tesis como si fuera la vuestra, me habéis guiado dando forma con el tiempo a este proyecto, mostrándome el camino a seguir y empujándome cuando las fuerzas no acompañan.

En especial, gracias a ti Gema por tu gran ayuda y rigurosidad.

No creo que hubiese encontrado mejores compañeros ni mejores maestros para esta experiencia. Gracias por confiar en mí.

He tenido el placer de conocer y compartir este viaje con muchas personas, todas han aportado su granito de arena y en esta Tesis hay un poquito de cada uno de ellos. Espero no olvidar a nadie:

Empezando por el principio, gracias a Daniel Sanz Bermejo por ponerme en contacto con Gema, sin esto nada hubiese ocurrido.

Gabriel Moyano, joven veterinario, gran profesional, gracias por tus enseñanzas, por tu apoyo y por tu buena disposición.

Al Cuerpo Nacional de Policía de la Casa de Campo por dejarme trabajar con sus caballos y prestarme sus instalaciones, ha sido todo facilidades. Muy especialmente y con mucho cariño al personal veterinario del Cuerpo Nacional de Policía de la Casa de Campo: a ti Silvestre por tu ayuda y tu sonrisa, a ti Natalia por tu dedicación y ayuda, a ti Paco por tu gran disposición para todo y por supuesto a ti Gloria por tu confianza, por tu apoyo y por tu amistad.

A Luis Centenera, por dejarme tus caballos y tus instalaciones, gracias por compartir tus conocimientos y por tus buenos consejos. A ti Curro, gracias por tu buen humor y por las fotos. ¡Qué gran equipo hacéis!

A la Guardia Real de Madrid, por dejarme trabajar con sus caballos y disponer de sus instalaciones. Al personal veterinario de la Guardia Real de Madrid, en especial al Teniente Coronel Joaquín Yus Respaldiza y a la Comandante Irene de Paz, por su apoyo, por su ayuda, por su amabilidad y disponibilidad en todo lo que he necesitado.

Por supuesto, quiero agradecer al resto del Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Veterinaria, por hacerme sentir parte de aquello y por vuestro interés.

Gracias a tantos compañeros y amigos que sean preocupado por mi proyecto, por su evolución, que me han apoyado y levantado en momentos duros: Isabel, Marian, Susana, Álvaro, Lola, Tuti y a todos mis pacientes que tanto interés han mostrado.

Quiero agradecer a mis padres el haberme dado siempre lo mejor, su apoyo incondicional en todos mis proyectos, sus sabias palabras y consejos y su respeto por dejarme elegir mi camino. Sigo aprendiendo de vosotros y de vuestro ejemplo.

A mi madre que es pura entrega y amor.

A mi padre, sé que estás orgulloso de mí.

A Kike, por su apoyo durante estos cinco años. Por compartir conmigo la tensión de la recta final y por enseñarme lo fuerte que puedo llegar a ser.

Por último, sin que esto haga que sean menos importantes, a todos y cada uno de los caballos que me han dejado trabajar con ellos, gracias por vuestra paciencia y vuestra colaboración.

Gracias a todos los mencionados y a los que probablemente me haya olvidado mentar. Sin vosotros no hubiera sido posible esta Tesis.

# Índice

---



<b>RESUMEN</b> .....	15
<b>SUMMARY</b> .....	25
<b>ACRÓNIMOS</b> .....	31
<b>JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	39
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	45
a. El manejo de la especie equina y los riesgos laborales que implica .....	46
b. Comportamiento equino.....	49
c. Respuestas neuroendocrinas .....	56
c.1. Sistema Nervioso.....	56
c.1.1. División .....	56
c.1.1.1. Según localización anatómica .....	57
c.1.1.2. Según el control que ejerce .....	64
c.1.1.3. Según la función.....	71
c.1.2. Funciones del Sistema Nervioso Autónomo .....	73
c.2. Fisiología del estrés .....	84
a. Concepto de estrés.....	84
b. Rutas del estrés.....	86
c. Hormonas del estrés .....	88
d. Consecuencias fisiológicas del estrés .....	92
d. Medicina Tradicional China: Acupuntura .....	94
i. Antecedentes históricos .....	95
ii. Bases de la Acupuntura .....	98
1. Teoría del Yin-Yang, el principio Qi-Hua .....	100
2. Teoría del Qi .....	108
3. Teoría de los cinco elementos .....	115
4. Teoría del Zang-Fu.....	117
5. Teoría del Jing-Luo .....	119
6. Reglas para la selección de los puntos en terapia .....	122
7. Tipos de agujas.....	123
8. Tipos de punción .....	125

iii.	Efecto fisiológico de la Acupuntura .....	126
iv.	Evidencia científica de la Acupuntura y de la existencia de los meridianos .....	127
v.	La acupuntura en la especie equina .....	132
	<b>MATERIAL Y METODOS</b> .....	135
A.	Animales, protocolo de recogida de muestras y tipos de punción .....	141
i.	Grupo de caballos enteros .....	142
ii.	Grupo de caballos castrados .....	143
B.	Medida de variables objetivas cuantitativas .....	153
C.	Recogida de variables cualitativas mediante observación directa .....	156
D.	Procesado de las muestras sanguíneas .....	157
E.	Medida de las concentraciones hormonales séricas .....	158
E.1.	Determinación de las concentraciones sérica de cortisol mediante EIA de competición .....	158
E.2.	Determinación de las concentraciones de hormona adrenocorticotropa en suero equino(ACTH) .....	163
E.3.	Determinación de las concentraciones de Epinefrina, Norepinefrina y Dopamina en suero equino mediante EIA de competición .....	165
E.4.	Determinación de las concentraciones de Serotonina en suero equino mediante EIA de competición .....	171
F.	Método observacional directo .....	174
G.	Análisis estadístico de los resultados .....	180
	<b>RESULTADOS</b> .....	183
a.	Concentraciones hormonales séricas .....	186
i.	ACTH .....	186
ii.	Cortisol .....	189
iii.	Epinefrina .....	192
iv.	Norepinefrina .....	195
v.	Serotonina .....	197
vi.	Dopamina .....	200

b.	Restantes variables cuantitativas .....	205
i.	Frecuencia cardiaca .....	205
ii.	Frecuencia respiratoria .....	207
iii.	Presión arterial sistólica y diastólica .....	210
iv.	Temperatura corporal .....	215
c.	Variables cualitativas .....	218
i.	Constricción pupilar .....	218
ii.	Activación urogenital .....	218
iii.	Posición de la cabeza .....	224
iv.	Posición de las orejas .....	227
v.	Gesto de la boca .....	230
vi.	Gestode los ollares .....	232
vii.	Gesto de los ojos .....	236
viii.	Posición de las manos .....	239
ix.	Posición de los pies .....	242
x.	Posición de la cola.....	245
xi.	Estado general .....	247
	<b>DISCUSIÓN</b> .....	253
	<b>COROLARIO DE RESULTADOS</b> .....	279
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	287
	<b>ANEXOS</b> .....	291
	<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	299



# Resumen

---



## **Respuestas neuroendocrinas inducidas por la Acupuntura en el caballo**

### **Introducción**

En la praxis diaria del trabajo con caballos, nos podemos encontrar con diferentes conductas en su manejo que condicionan nuestra seguridad como profesionales.

La domesticación de *Equus Caballus* ha conllevado una serie de modificaciones en la forma de vida y de rutinas o actividades de esta especie. Estos cambios en su calidad de vida originan, en algunos ejemplares, un comportamiento inadecuado que complica su manejo, volviéndolo en ocasiones peligroso.

El bienestar animal es un área de investigación cada vez más extendida que se preocupa por analizar en qué condiciones viven los animales domésticos y de granja, para intentar mejorarlas favoreciendo así su calidad de vida y evitar los efectos adversos o estresantes que puedan generar alteraciones en su salud.

Hay otros factores que pueden provocar alteraciones del comportamiento durante el manejo de los caballos como son las alteraciones hormonales, cambios metabólicos, exposición a estímulos nuevos o estresantes, cambios de rutinas, traumas psicológicos, patologías dolorosas, entre otros.

Ante estos comportamientos inadecuados y, el riesgo que pueden conllevar para el profesional que tenga que manejar al ejemplar, se suele optar por el uso de sedantes. Múltiples estudios recogen los efectos adversos de esta práctica que, a veces, es excesiva e innecesaria.

La Medicina Tradicional China puede aportar muchos beneficios en este aspecto. Se trata de una técnica reconocida por la Organización Mundial de Salud, desde el año 1979, como medio de tratamiento eficaz para diversas enfermedades y trastornos.

En los últimos años, muchos autores se han interesado por esta medicina oriental, presentando estudios y trabajos variados que confirman su utilidad en el tratamiento animal.

En este estudio queremos demostrar la eficacia de un tratamiento de Acupuntura concreto: Baihui, Vaso Gobernador 16 y Vejiga 60 en el lado derecho, seleccionado tras

realizar una extensa revisión bibliográfica, para inducir cambios en el Sistema Nervioso Autónomo del caballo a favor de la relajación.

### Objetivos:

En este estudio nos hemos planteado los siguientes objetivos:

- ✚ Valorar y analizar las concentraciones de hormona adrenocórticotropa (ACTH), cortisol, epinefrina y norepinefrina en sangre en situación basal, durante la punción y tras la retirada de las agujas.
- ✚ Valorar y analizar las concentraciones de dopamina y serotonina en sangre en situación basal, durante la punción y tras la retirada de las agujas.
- ✚ Valorar y analizar la frecuencia cardíaca (FC), frecuencia respiratoria (FR), presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD) tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
- ✚ Valorar los cambios en la temperatura tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
- ✚ Recoger y estudiar una serie de parámetros mediante observación directa (OD):
  - 
  - Valorar la presencia de constricción pupilar tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
  - Valorar la actividad genital tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
  - Valorar la actividad urinaria (micción) e intestinal (defecación) tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
  - Valorar la aparición de signos que indiquen una activación del SNA: postura corporal y gestos faciales.
- ✚ Valorar el tiempo que tardan en aparecer estos signos tras la punción y cuánto tiempo se mantienen después de retirar las agujas.
- ✚ Analizar los datos desde un punto de vista global para relacionar los resultados de las variables cuantitativas con las variables cualitativas.

## Material y métodos:

Antes de realizar el estudio definitivo con el tipo de punción seleccionado (punción nº3), se probó, en algunos ejemplares, diferentes tipos de punciones que se habían usado en otros estudios con el mismo fin.

La selección de los puntos a tratar definitivamente estuvo condicionada por:

- ✚ La frecuencia de uso en la práctica equina.
- ✚ Puntos de fácil acceso para el terapeuta.
- ✚ Buena tolerancia por parte del caballo.

Finalmente la punción nº3, fue aplicada en 30 caballos que se dividieron en dos grupos en función de su condición sexual:

- ✚ Grupo I: 20 caballos machos enteros entre Pura Raza Española e Hispano bretones de una media de edad de 13,4 años.
- ✚ Grupo II: 10 caballos machos castrados de diferentes razas de una media de edad de 12,8 años.

Para la selección de los ejemplares se determinaron los siguientes criterios de exclusión:

- ✚ No padecer ninguna patología respiratoria, ni cardiovascular, ni urinaria, ni neurológica aguda o crónica.
- ✚ No haber padecido ninguna patología de las anteriormente mencionadas en los últimos tres meses.
- ✚ No haber tomado medicación desde hace un mes.
- ✚ Yeguas o potros.

El protocolo de recogida de datos ha sido igual para todos los ejemplares, tras situar al caballo en el lugar de trabajo y, tras colocar el catéter intravenoso, se realizan mediciones de frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, presión arterial sistólica y diastólica, temperatura corporal y constricción pupilar. También se toma la muestra de sangre.

Posteriormente se realiza la punción de las agujas en los puntos seleccionados y se estimulan las agujas según la Medicina Tradicional China.

El protocolo de recogidas de datos y toma de la muestra de sangre se realiza de igual manera 15 minutos después de la punción, 30 minutos tras la punción y 45 minutos tras la punción. Tras esta medición se procede a la retirada de las agujas y se vuelven a recoger los mismos datos y toma de sangre 15 minutos después de la retirada y 30 minutos después de la retirada.

Los caballos tienen un lenguaje corporal muy marcado. Para este estudio se diseñó una tabla de recogida de variables cualitativas, donde se contemplan las diversas posturas, por zonas, que puede adoptar un caballo cuando se encuentra relajado, cuando está normal o cuando está nervioso. Esta observación directa se realizó en los mismos tiempos de recogida de las otras variables y fue realizado por dos observadores.

### **Resultados:**

Respecto a las hormonas séricas:

En todas las hormonas séricas analizadas se puede observar un cambio en sus concentraciones tras la realización de la punción respecto a los niveles registrados en la toma basal. Tras la retirada de las agujas también se observan modificaciones en sus concentraciones.

Los valores registrados al final del estudio para la hormona adrenocorticotropa son similares a los registrados al inicio del estudio.

En el caso del Cortisol, la epinefrina y la norepinefrina, sus valores al final del estudio son inferiores que los que se registraron en la toma basal, antes de comenzar con el tratamiento acupuntural.

Por su parte, la Serotonina sufre un aumento de su concentración durante el estudio. Los valores finales que se han registrado son más altos que los tomados en la situación inicial.

Se observa un movimiento antagónico durante la evolución del estudio entre la Serotonina y la Dopamina. Esta última presenta unos valores finales más bajos que los registrados en la situación basal.

Respecto a las variables cuantitativas:

La frecuencia cardiaca no sufre grandes cambios con la aplicación de las agujas, sus registros finales son ligeramente más altos que al inicio.

La frecuencia respiratoria presenta unos valores similares durante todo el estudio. El efecto de la Acupuntura sobre esta variable parece inexistente.

Respecto a la presión arterial, sufre cambios con la aplicación de las agujas, de tal manera que tanto en la sistólica como en la diastólica se registran unos valores finales inferiores a los tomados en la situación de inicio.

No registramos cambios en la temperatura corporal.

Respecto a las variables cualitativas:

Las variables cualitativas que se han valorado por dos observadores en este trabajo han sido: la constricción pupilar, la activación urogenital e intestinal, la altura de la cabeza, el gesto de los ojos, el gesto de la boca y ollares, los movimientos o la quietud en los miembros torácicos y pelvianos, la posición de la cola y el estado general del animal.

Todos son indicativos del estado mental o amínico del ejemplar.

No se han observado alteraciones en la constricción pupilar durante el estudio.

La activación urogenital e intestinal es una variable que ha sufrido muchos cambios durante el estudio en ambos grupos. Los cambios más claros y significativos comienzan con la aplicación de las agujas, alcanzando el mayor porcentaje de ejemplares que presentan signos de activación tras 30 minutos. También se registra un significativo cambio a la baja con la retirada de las agujas.

A nivel general, tras la punción se registran los mayores porcentajes de caballos que presentan un estado general de relajación, principalmente a los 30 y 45 minutos después de la realización del tratamiento de Acupuntura. Con la retirada de las agujas se registra un descenso en este porcentaje. Al final del estudio hay un mayor número de caballos con muestras de relajación en su estado general que al inicio del mismo.

**Conclusiones. Las conclusiones obtenidas en el estudio han sido las siguientes:**

1. La estimulación generada por el tratamiento de Acupuntura en el Sistema Nervioso Autónomo Simpático, produce una respuesta neuroendocrina sobre el eje Hipotálamico-hipófisario-adrenal durante el periodo en el que las agujas están punturadas.
2. Los cambios en los niveles de Serotonina y Dopamina obtenidos como consecuencia del tratamiento de Acupuntura realizado, son buenos indicadores del estado de relajación conseguida en los caballos.
3. Las variables cuantitativas y cualitativas registradas muestran una modulación inicial, relacionada con el aumento del tono simpático y, posteriormente, se registra un cambio a favor de la predominancia del tono parasimpático, considerándose como un comportamiento reflejo de la activación parasimpática.
4. **Conclusión final:** El tratamiento acupuntural pautado, consistente en la punción de Baihui, Vaso Gobernador 16 y Vejiga 60 (lado derecho), ha sido capaz de inducir una respuesta neuroendocrina en el caballo que implica tanto al Sistema Nervioso Autónomo Simpático como al Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático.

# Summary

---



## **Neuroendocrine responses induced by Acupuncture in horses**

### **Introduction**

In daily work with horses, they show many different behaviours when handling them that have an impact on our safety as professionals.

The domestication of *Equus caballus* has involved a series of modifications in the way of life and routines or activities for this species. These changes in their quality of life have, in some cases, led to inappropriate behaviour which complicates their handling and sometimes makes it dangerous.

Animal wellbeing is an increasingly expanding area of research that involves analysing the conditions in which domestic and farm animals live in order to try to improve them and, thus, enhance their quality of life and prevent the adverse or stressful effects that may alter their health.

There are other factors that can produce behavioural alterations when handling horses such as hormonal alterations, metabolic changes, exposure to new or stressful stimuli, changes in routines, psychological traumas, painful pathologies, etc.

When faced with these inappropriate behaviours and possible risks for professionals who must handle them, sedatives are often used. A number of studies outline the adverse effects of this practice which is sometimes excessive and unnecessary.

Traditional Chinese Medicine can offer many benefits in this area. It is a technique that has been recognised by the World Health Organisation since 1979, as an effective means of treatment for various diseases and illnesses.

In recent years, many authors have written about this oriental medicine, presenting various studies and papers confirming its usefulness in treating animals.

In this study, we wish to prove the efficacy of a specific type of Acupuncture treatment: Baihui, Governing Vessel 16 and Bladder 60 on the right side, which was selected following an extensive bibliographic review in order to induce changes in the Autonomic Nervous System of horses to foster relaxation.

**Aims:**

The following aims were proposed for this study:

- ✚ To assess and analyse the concentrations of adrenocorticotrophic hormone (ACTH), cortisol, epinephrine and norepinephrine in the blood in a basal situation, during puncture and after the removal of needles.
- ✚ To assess and analyse the concentrations of dopamine and serotonin in the blood in a basal situation, during puncture and after the removal of needles.
- ✚ To assess and analyse heart rate (HR), respiratory rate (RR), systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) following puncture and, then, upon removing the needles.
- ✚ To assess the changes in temperature following puncture and, then, upon removing the needles.
- ✚ To collect and study a series of parameters via direct observation (DO):
  - To assess the presence of pupillary constriction after puncture and, then, upon removing the needles.
  - To assess genital activity after puncture and, then, upon removing the needles.
  - To assess urinary activity (urination) and intestinal activity (defecation) after puncture and, then, upon removing the needles.
  - To assess the appearance of signs indicating activation of the SNA: body posture and facial gestures.
- ✚ To assess the time it takes for these signs to appear following puncture and how much time they remain after removal of the needles.
- ✚ To analyse the data from a comprehensive standpoint to connect the results of the quantitative variables to the qualitative variables.

## Material and methods:

Before conducting the definitive study with the selected puncture type (puncture no. 3), different types of punctures which had been used in other studies for the same purpose were tested in a few animals.

The final selection of the points to be treated was conditioned by:

- ✚ The frequency of use in equine practice
- ✚ The points of easy access for the therapist
- ✚ Good tolerance by the horse

Finally, puncture no. 3 was applied to 30 horses which were divided into two groups based on their sexual condition:

- ✚ Group I: 20 stallions of Pure Spanish horses and Hispano-Breton horses of an average age of 13.4 years.
- ✚ Group II: 10 geldings of different races of an average age of 12.8 years.

The following exclusion criteria were established for selecting the study animals:

- ✚ They could not have any acute or chronic respiratory, cardiovascular, urinary or neurological pathology.
- ✚ They could not have had any of the abovementioned pathologies in the three months before the study.
- ✚ They had to be medication-free for at least one month.
- ✚ Mares or foals.

The data collection protocol was the same for all of the animals. After situating the horse in the work area and after inserting the intravenous catheter, heart rate, respiratory rate, systolic and diastolic blood pressure, body temperature and pupillary constriction were all measured. A blood sample was also taken.

Then, the needles were inserted into the selected points and the needles were stimulated as per Traditional Chinese Medicine.

The data collection protocol was performed and a blood sample was taken in the exact same manner 15 minutes after puncture, 30 minutes after puncture and 45 minutes after

puncture. The needles were removed after the last measurement and the same data were collected and blood was taken 15 minutes after removal and 30 minutes after removal.

Horses reflect highly noticeable body language. A table was designed for this study for the qualitative variables reflecting the various postures, by zones, which a horse can adopt when relaxed, when in a normal state and when nervous. This direct observation was done at the same times as the data was collected for the other variables. This was done by two observers.

## **Results:**

With respect to serum hormones:

There was a change in concentration of all of the serum hormones analysed following puncture in comparison to the basal levels recorded. Modifications in these concentrations were also observed following removal of the needles.

The values recorded at the end of the study for the adrenocorticotrophic hormone were similar to those recorded at the beginning of the study.

As for the cortisol, epinephrine and norepinephrine, the values at the end of the study were lower than the basal recordings before the start of acupuncture treatment.

On the other hand, there was an increase in serotonin concentration during the study. The final values recorded were higher than those taken in the initial situation.

Antagonist hormone profile was observed during the study between the serotonin and dopamine. The latter reflected lower final values than recorded in the basal situation.

With respect to the quantitative variables:

Heart rate did not showed significant changes with the application of the needles as the final recordings were only slightly higher than in the beginning.

The respiratory rate values were quite similar throughout the study. There does not seem to be any effect of Acupuncture on this variable.

As concerns blood pressure, it changes with the application of needles as the systolic and diastolic blood pressures recorded reflected lower final values than taken in the initial situation.

Body temperature did not showed any change along the experimental period.

With respect to the qualitative variables:

The qualitative variables assessed by two observers for this work were pupillary constriction, urogenital and intestinal activation, posture of the head, eye/lid posture, mouth and nostril expression, movement or stillness in the thoracic and pelvic limbs, the tail position and general state.

All of these are indicative of a horse's mental state and mood.

We did not observe any changes or alterations in the quality of pupillary constriction during the study.

Urogenital and intestinal activation is a variable that suffered many changes during the study in both groups. The most obvious and significant changes began with the application of the needles with the highest percentage of animals showing signs of activation after 30 minutes. A significant downward change was also recorded upon removal of the needles.

In general, the highest percentages of horses showing a relaxed general state after puncture were mainly recorded at 30 and 45 minutes after Acupuncture treatment. A drop in this percentage was recorded upon removal of the needles. There was a larger number of horses showing signs of relaxation in their general state at the end of the study than at the beginning.

**Conclusions. The following conclusions have been obtained from the present study:**

1. The stimulation of Sympathetic Autonomous Nervous System generated by Acupuncture treatment triggered a neuroendocrine response on the Hypothalamus-pituitary-adrenal axis during the period of application of needles.
2. Acupuncture treatment generated several changes on the hormone profiles of both serotonin and dopamine. These changes are good indicators of the horse relaxation status obtained by Acupuncture treatment.
3. Both quantitative and qualitative registered variables showed an initial modulation of autonomous nervous system which is related to an augmented sympathetic tone. Then, new change is registered and the parasympathetic tone became predominant. Thus could be considered as a reflexed behaviour originated by the parasympathetic activation.

**Final Conclusion:** the administered Acupuncture treatment (Baihui, GV16 and Bladder 60 (right side), has been able to induce a neuroendocrine response in horses involving both sympathetic and parasympathetic autonomous nervous systems responses.



# **Acrónimos**

---



## A

---

$\alpha$ :	Alpha
$\alpha 1$ :	Receptor Alpha 1
$\alpha 2$ :	Receptor Alpha 2
a.C.:	antes de cristo
AAMI:	Association for the advancement of medical instrumentation
Ach:	Acetilcolina
ACTH:	Adrenocorticotrophic Hormone - Hormona Adrenocorticotropa
$\alpha$ MSH:	Hormona estimuladora de Melanocitos

## B

---

$\beta$ :	Beta
$\beta 1$ :	Receptor Beta 1
$\beta 2$ :	Receptor Beta 2
BHS:	British Hypertension Society – Sociedad Británica de Hipertensión

## C

---

C:	Cervical
°C:	Grado centígrado
Cd:	Coccígeo o caudal
CD:	Corriente Directa
CGCF:	Consejo general de Colegios de Fisioterapeutas de España
Cl:	Cloro
cm:	Centímetros

COMT: Catecol orto metiltransferasa

CRH: Corticotropin Releasing Hormone - Hormona liberadora de corticotropina

---

**D**

d.C.: después de cristo

DA: Receptores Dopaminérgicos

D-H: Dopamina-hidroxilasa

DOPA: Dihidroxifenilamina

---

**E**

ECG: Ecocardiograma

EIA: Enzyme-inmuno Assay - Enzimoimmunoanálisis

ESH: European Society of Hypertension

etc: etcétera

EEUU: Estados Unidos

---

**F**

FC: Frecuencia cardiaca

FR: Frecuencia respiratoria

---

**G**

GC: Glucocorticoide

GR: Glucocorticoid receptor - Receptores de Glucocorticoide

GAS: General Adaptation Syndrome - Síndrome general de adaptación al estrés

## **H**

---

HB:	Hispanobretón
HCl:	Ácido Clorhídrico
HHA:	Hypothalamic-hipofisary- adrenal - Hipotálamico-hipofisario-adrenal
HRV:	Heart Rate Variability- Variabilidad del ritmocardiaco
5-HT:	Serotonina

## **I**

---

IgG:	Inmunoglobulina G
------	-------------------

## **K**

---

K <sup>+</sup> :	Potasio
Kg:	kilogramos

## **L**

---

L:	Lumbar
----	--------

## **M**

---

MC:	Mineralocorticoide
ml:	Militros
mm:	Milímetros
mmHg:	Milímetros de Mercurio
MR:	Receptores de Mineralocorticoide
MTCh:	Medicina Tradicional China

**N**

---

nº: número

Na+: Sodio

NaCl: Cloruro Sódico

NE: Norepinefrina

ng: Nanogramo

nm: Nanometro

NMS: Neurona Motora Superior

NMI: Neurona Motora Inferior

**O**

---

OD: Observación Directa

OMS: Organización mundial de la Salud

**P**

---

PA: Presión Arterial

PAD: Presión Arterial Diastólica

PAS: Presión Arterial Sistólica

Pc: Pericardio

pg: Picogramo

pH: Potencial Hidrógeno

PNMT: Feniletanolamina-N-metil transferasa

POMC: Proopiomelanocortina

PRE: Pura Raza Español

PVN: Paraventricular nucleus - Núcleo Paraventricular

**R**

---

RC: Reactividad cruzada

**S**

---

S: Sacra

SAS: Statistical Analysis Systems

SB: Situación basal

SE: Significación Estadística

S.L.: Sociedad Limitada

SN: Sistema Nervioso

SNA: Sistema Nervioso Autónomo

SNAE: Sistema Nervioso Autónomo Entérico

SNAS: Sistema Nervioso Autónomo Simpático

SNAP: Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático

SNC: Sistema Nervioso Central

SNP: Sistema Nervioso Periférico

SPSS: Statistical Package for Social Science

**T**

---

T: Torácica

T<sup>a</sup>: Temperatura

TH: Tirosina-hidroxilasa

TMB: Tetrametilbencidina

---

**U**

---

μl: Microlitro

UCM: Universidad Complutense de Madrid

UNESCO: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization

USA: United States of America

**V**

---

V: Vejiga

VG: Vaso Gobernador

VC: Vaso Concepción

# **Justificación y objetivos**

---



La Acupuntura es un método terapéutico que forma parte de la Medicina Tradicional China. La más lejana mención que se conoce escrita de la Acupuntura, está fechada en el año 580 a.C. Se trata de “El libro de las Primaveras y los Otoños”, historia de la China del siglo VIII al siglo V a.C.

La primera persona registrada en ejercer la Acupuntura en la Medicina Veterinaria y, al que también se le considera como el progenitor de la Medicina Veterinaria en China, es Shun-Yong que vivió en el 480 a.C. al que se le atribuye la autoría del libro Zuo Zhuan o “Libro de los animales” donde se describe cómo identificar la edad y la salud de los caballos a través del estudio de su dentición (1).

Con el paso de los años y tras realizar diversos y variados estudios y, a pesar de no saber exactamente como trabaja esta técnica, se ha demostrado su eficacia en multitud de patologías tanto traumatológicas, como neurológicas y psicológicas (2).

Debido a su alta demanda, cada vez hay más profesionales que realizan acupuntura para el tratamiento de los animales, tiene pocos riesgos, pocos efectos adversos y aporta muchos beneficios.

En el mundo equino se manejan diferentes tipos de animales, diferentes razas, diferentes géneros y, como consecuencia, animales con diferentes comportamientos. Al trabajar con algunos ejemplares de temperamento más fuerte, se corre el riesgo de sufrir lesiones físicas de diversa gravedad. Además, el animal durante su manejo y durante la realización de pruebas de diagnóstico, evaluación o tratamientos, puede sufrir altos grados de estrés que pueden modificar su conducta y afectar en su rendimiento deportivo (3).

En nuestra praxis diaria nos encontramos con ejemplares nerviosos de complejo manejo y, a pesar de que, legalmente, podamos indicar, usar y autorizar medicamentos no sujetos a prescripción (2), como Fisioterapeutas no entra dentro de nuestras competencias el poder sedar a un caballo.

Pero sí podemos trabajar con la Medicina Tradicional China y más concretamente con la Acupuntura, ya que según el Real Decreto 1001/2002, de 27 de septiembre por el cual se aprueban los estatutos generales del Consejo General de Colegios de Fisioterapeutas de España (CGCF): los fisioterapeutas pueden usar todos los medios físicos a su alcance que

tengan efectos terapéuticos y, también, aquellas técnicas alternativas que tengan afinidad con el campo de la Fisioterapia, como es el caso de la Acupuntura.

No existe regulación específica para la formación, el ejercicio ni práctica de la Medicina China y Acupuntura, pero sí quedó registrado a través del Real Decreto 1591/2010, de 26 de noviembre, por el que se aprueba la Clasificación Nacional de Ocupaciones en el que el Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad, publicó el primer documento de análisis de situación de las Terapias Naturales, un documento descriptivo sobre las Terapias Naturales que ha sido muy coparticipado y que puede servir de base para el abordaje de una posible regulación en el futuro (4).

Al no existir una regulación específica de la formación ni de la titulación de las personas que aplican las Terapias Naturales, en la práctica, coexisten profesionales sanitarios y no sanitarios que las realizan, existiendo Terapias Naturales Alternativas que carecen de formación oficial homologada aunque se impartan en Centros Universitarios.

Proponemos el uso de la Medicina Tradicional China y, más concretamente, la Acupuntura como una opción más a tener en cuenta, en el caso de la Fisioterapia, con el fin de poder conseguir una activación del Sistema Nervioso Autónomo (SNA) y, como consecuencia, la relajación del caballo.

En España, no existen registros sobre las lesiones producidas por caballos durante el desempeño de la actividad laboral de los profesionales que trabajan con ellos: veterinarios, auxiliares, herradores, fisioterapeutas,... pero todos ellos son conscientes de que se trabaja con animales grandes y en ocasiones con respuestas imprevisibles.

Los riesgos laborales a los cuales se encuentran sometidos los profesionales que trabajan con animales son altos y de gran amplitud. El profesional está expuesto a riesgos de tipo traumático, heridas, fracturas, etc., que le pueden ocasionar lesiones de diversa gravedad (5). Se posee muy poca información sobre los accidentes relacionados con animales en España, y no hay ningún trabajo publicado en el ámbito estatal (6).

Según un estudio Estadounidense (7) el 64,6% de las lesiones sufridas en el ámbito veterinario ocurren con caballos. La coxa es el mecanismo lesional más frecuente con un tanto por ciento del 35,5, seguido por las mordeduras con un 34%. Otros mecanismos de lesión contemplados son:

- Choque 11,7%.
- Pisotones 3,8%.
- Otras 14,9% (cabezazos, caídas sobre el veterinario, empujones).

De los 995 veterinarios entrevistados en el estudio, el 52,6% habían sufrido lesiones en las manos, el 27,6% en los brazos, el 20,8% en la cabeza. El 35% de estos veterinarios había necesitado sutura en las lesiones sufridas (8).

En el Real Decreto 1995/1978 de 12 de Mayo se agrupan las enfermedades profesionales en seis grandes grupos atendiendo a un criterio causal o etiológico, en uno de ellos se contemplan las producidas por agentes físicos (9).

Un caballo adulto pesa alrededor de 400-500 kg y su coz logra generar una fuerza superior a 1,8 veces su peso, los accidentes relacionados con caballos pueden provocar grandes lesiones, potencialmente mortales o ser causantes de secuelas importantes (6).

Además de las reacciones que tienen los equinos en respuesta a un estímulo doloroso, desagradable o desconocido, durante la práctica veterinaria hay que tener en cuenta los cambios de conducta observados en algunos caballos, provocados por un trauma psicológico, por desorden neurológico, o por cambios hormonales (10).

Hipótesis:

La hipótesis del estudio es que la Acupuntura induce una respuesta neuroendocrina mediante la activación y/o inhibición del Sistema Nervioso Autónomo (SNA) que provoca una relajación general en el equino que servirá para facilitar su manejo en la práctica diaria.

Objetivo principal:

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral es intentar demostrar que, a través de la punción de tres puntos de acupuntura: Baihui, VG16 y V60 en el lado derecho, se puede inducir una respuesta neuroendocrina que conducirá a una relajación objetiva y cuantificable del caballo. Por ello, en el diseño del estudio se recogen variables tanto objetivas y medibles como subjetivas cualitativas, para intentar relacionar posteriormente los resultados de unas con las otras.

En este estudio queremos valorar si se producen respuestas neuroendocrinas, y de qué magnitud, en caballos enteros y castrados tras realizar la punción de los puntos seleccionados, para lo cual se proponen los siguientes objetivos específicos.

Objetivos específicos que nos permitan demostrar las respuestas neuroendocrinas inducidas por la acupuntura:

- Valorar y analizar las concentraciones de hormona adrenocórticotropa (ACTH), cortisol, epinefrina y norepinefrina en sangre en situación basal, durante la punción y tras la retirada de las agujas.
- Valorar y analizar las concentraciones de dopamina y serotonina en sangre en situación basal, durante la punción y tras la retirada de las agujas.
- Valorar y analizar la frecuencia cardiaca (FC), frecuencia respiratoria (FR), presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD) en situación basal, tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
- Valorar los cambios en la temperatura tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
- Recoger y estudiar una serie de parámetros mediante observación directa (OD):
  - Valorar la presencia de constricción pupilar tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
  - Valorar la actividad genital tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
  - Valorar la actividad urinaria (micción) e intestinal (defecación) tras la punción y, posteriormente, a la retirada de las agujas.
  - Valorar la aparición de signos que indiquen una activación del SNA: postura corporal y gestos faciales.
- Valorar el tiempo que tardan en aparecer estos signos tras la punción y cuánto tiempo se mantienen después de retirar las agujas.
- Analizar los datos desde un punto de vista global para relacionar los resultados de las variables cuantitativas con las variables cualitativas.

# **Introducción**

---



**a. El manejo de la especie equina y los riesgos laborales que implica**

Trabajar con animales conlleva tener conocimientos sobre etología y comportamiento animal, para prever las reacciones de los mismos. Hay equinos que pueden sufrir mayores cambios de comportamiento debido a traumas psicológicos, desórdenes neurológicos o cambios hormonales. Los riesgos laborales que sufren los profesionales que trabajan con animales son difícilmente cuantificables ya que no existen demasiados estudios al respecto y menos en España.

En el manejo del equino nos encontramos con diferentes tipos de animales, diferentes razas, diferentes géneros y, como consecuencia, animales con diferentes comportamientos. Al trabajar con algunos ejemplares de temperamento más agresivo, se corre el riesgo de sufrir lesiones físicas de diversa gravedad. El animal durante su manejo y durante la realización de pruebas de diagnóstico, evaluación, herraje o tratamientos, puede sufrir altos grados de estrés que pueden modificar su conducta, afectar a su estado de salud y alterar su rendimiento deportivo y laboral.

Los animales de deporte están predispuestos a sufrir diversos tipos de lesiones específicas en sus prácticas deportivas habituales. Estas lesiones dependen del tipo de disciplina y del nivel de competición (11). Hasta hace pocos años, la tarea de recuperar la salud de estos animales y, devolverles la funcionalidad recaía, exclusivamente, en el colectivo veterinario. Con el aumento del número de personas que practican estas disciplinas deportivas, se necesita la formación específica de nuevos profesionales especializados en el tratamiento de lesiones deportivas, en animales. El tratamiento y seguimiento de este tipo de lesiones conlleva un trato muy cercano con el animal que, no está exento de riesgos.

Los riesgos laborales, a los cuales se encuentran sometidos los profesionales que trabajan con animales, son elevados y numerosos. El profesional está expuesto a riesgos de tipo traumático, heridas, fracturas, etc., que le pueden ocasionar lesiones de diversa gravedad (12). Se posee muy poca información sobre los accidentes laborales relacionados con animales en España, y no hay ningún trabajo publicado en el ámbito estatal (13).

Según un estudio Estadounidense (14) el 64,6% de las lesiones sufridas en el ámbito veterinario ocurren con caballos. La coz es el mecanismo lesional más frecuente con un tanto por ciento del 35,5, seguido por las mordeduras con un 34%.

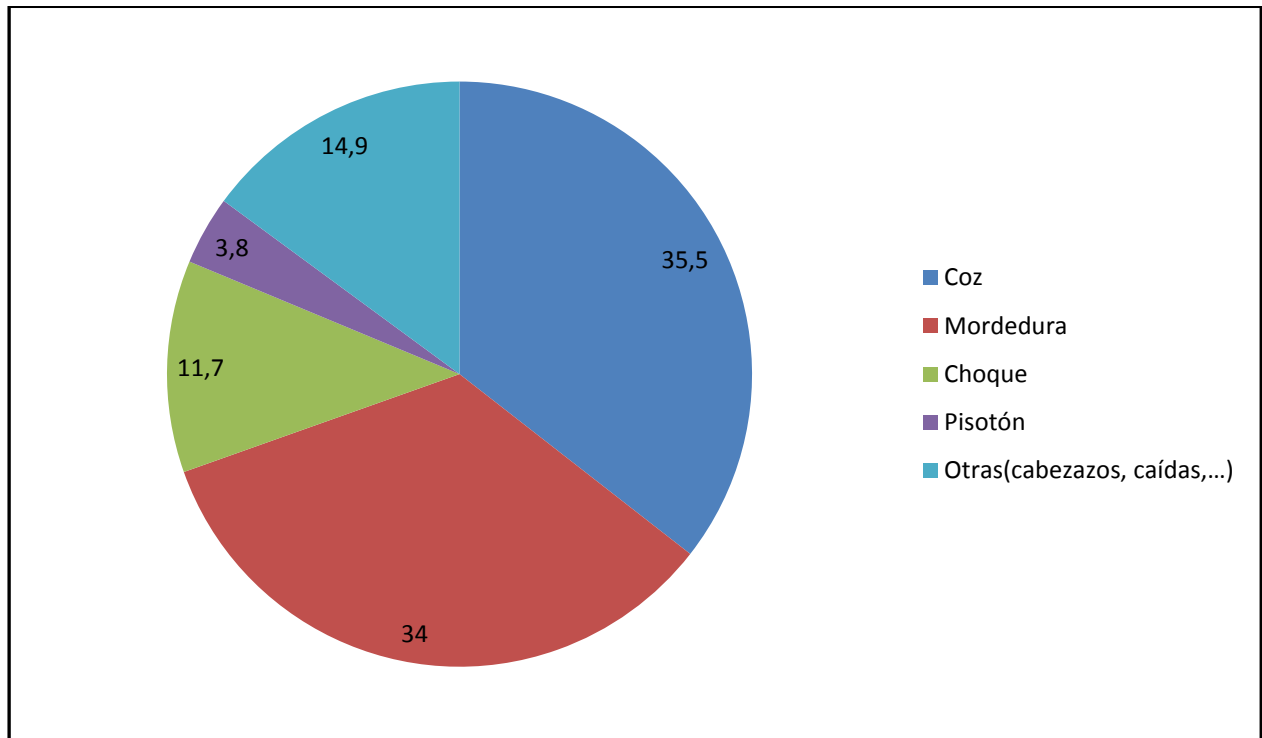


Imagen 1.- Porcentajes de los tipos de lesiones sufridas por veterinarios.

De los 995 veterinarios entrevistados en el estudio, el 52,6% habían sufrido lesiones en las manos, el 27,6% en los brazos y el 20,8% en la cabeza. El 35% de estos veterinarios había necesitado sutura en estas lesiones (15).

El Real Decreto 1995/1978 de 12 de mayo agrupa las enfermedades profesionales en seis grandes grupos, atendiendo a un criterio causal o etiológico; en uno de ellos se contemplan las producidas por agentes físicos (16).

Un caballo adulto pesa alrededor de 400-500kg y su coz logra generar una fuerza superior a 1,8 veces su peso. Los accidentes relacionados con caballos pueden provocar grandes lesiones, potencialmente mortales, o causantes de secuelas importantes (13).

## **b. El comportamiento equino**

Conocer el comportamiento del caballo es fundamental para gestionar mejor su manejo, garantizando su bienestar, lo que ayuda a prever posibles respuestas que el animal desarrolle en un determinado ambiente o, ante una determinada situación. Contribuye también, a mejorar el manejo general, lograr mejores resultados, aumentar la seguridad del sanitario y toda persona que trabaje con equinos y, disminuir los riesgos de accidentes.

El comportamiento animal es el conjunto de respuestas que presentan los animales frente a los estímulos internos y externos que reciben del medio que les rodea.

Los estímulos internos dependen del funcionamiento del propio organismo. Por ejemplo, la sensación de hambre del estómago es un estímulo interno que provoca la respuesta de búsqueda de alimento.

Los estímulos externos, tienen su origen en el medio que le rodea. Así, la aparición de un depredador estimula la respuesta de huida del equino (17).

El objetivo del comportamiento que desarrolla el caballo, como presa que es, se basa en su supervivencia y en la supervivencia de la especie. Por lo que, la primera respuesta que utiliza ante un estímulo de amenaza es la huida.

Los estímulos del medio ambiente son captados por los órganos de los sentidos del caballo:

- **Visión:** los ojos del caballo están situados a los lados de la cabeza, lo que le otorga un amplio campo visual a su alrededor (330 – 340 grados), pero forma dos zonas ciegas: una posterior y otra anterior que llega hasta 1,20-2 metros por delante de su cabeza. La superposición de los campos visuales de cada ojo, le confiere visión bifocal en esa zona, por ello para apreciar distancias debe girar la cabeza y mirar con los dos ojos (18).
- **Oído:** Su capacidad auditiva disminuye con el paso de los años, pero es mucho mayor que la de los humanos (25 kilociclos en equinos; 20 kilociclos en humanos). Perciben sonidos más agudos y más débiles que los humanos. Las orejas se mueven de manera individual, y cada una de ellas posee 16 músculos para hacerlo. Sus movimientos y posiciones son un gran indicador de diferentes estados emocionales (19).

- Olfato: Es un sentido de vital importancia para el caballo. Mediante él, identifican olores que sirven para su supervivencia, protección y vida de relación. Es fundamental en la comunicación entre yeguarizos; mediante él se reconocen los individuos de la manada entre sí (19).
- Gusto: Es el sentido del equino que menos se conoce. Identifica fácilmente lo amargo, y eso le permite reconocer plantas tóxicas y no elegirlas en su dieta.
- Tacto: El caballo posee un agudo sentido del tacto en la mayoría de la superficie de su cuerpo. Además de la sensibilidad táctil, superficial o profunda, tienen sensibilidad térmica y dolorosa. Existen zonas del cuerpo con mayor sensibilidad que otras, como la cabeza, sobre todo el hocico y alrededor de los ojos, donde poseen pelos táctiles, y la boca.

Los órganos de los sentidos y demás exteroceptores recogen la información del medio que los rodea, la interpreta y da respuesta voluntaria o involuntaria gracias al Sistema Nervioso.

Además de las reacciones que tienen los equinos en respuesta a un estímulo doloroso, desagradable o desconocido, durante la praxis diaria, hay que tener en cuenta los cambios de conducta observados en algunos caballos, provocados por un trauma psicológico, por desorden neurológico o por cambios hormonales (20).

Los cambios de conducta, sean o no provocados por una causa física, pueden ocasionar disminución del rendimiento en el trabajo, hiperactividad, ataques de pánico, comportamientos indeseables: patear, pisar, movimientos bruscos inesperados, etc.

Los caballos que más sufren cambios de comportamiento debido a causas hormonales son las yeguas y los caballos sin castrar o enteros. Estos últimos son castrados, frecuentemente, para lograr una conducta más sumisa y reducir su instinto reproductor, que altera su comportamiento en presencia de yeguas u otros machos enteros (21,22).

La razón más común para modular la actividad reproductiva en el caballo entero, es alterar la expresión del comportamiento sexual. En el caso de los caballos enteros, usados en competición o de ocio, la manifestación del comportamiento sexual o comportamiento agresivo, puede ser una distracción para caballo y jinete e, incluso, entrañar peligro (23).

Este comportamiento del caballo entero se debe a los altos niveles de testosterona (24, 25,26). Esta hormona activa vías en el cerebro, médula y puntos periféricos de entrada de información sensitiva y salida de información motora, a favor de la respuesta sexual (26).

Con las técnicas de castración se consigue un descenso significativo del nivel de testosterona y, como consecuencia, un cambio en el comportamiento del animal (27).

Los caballos presentan un repertorio conductual característico para su especie, entendiendo por conducta las acciones y reacciones de un organismo frente a su medio ambiente, con un fin determinado. Estas respuestas se controlan de manera interna por el sistema endocrino y nervioso, y externamente por el medio ambiente (28).

Según los estudios (29,30), debido a las condiciones inadecuadas de manejo ambiental y social, los caballos domésticos no son capaces de satisfacer sus necesidades, quedando en un estado motivacional elevado, esto se contempla como un factor estresante que puede desembocar en la aparición de conductas no deseadas.

Se entiende por conductas anormales o estereotipadas aquellas que presentan una desviación significativa del promedio y que no presentan una función obvia, o pudiendo producir un daño sobre el mismo animal y, generando un cambio en su comportamiento. Algunos autores consideran que estas conductas no deseadas parecen tener una función adaptativa para el animal, permitiéndole de esta manera enfrentar el cautiverio (31). En términos generales las conductas no deseadas tienden a reducir el rendimiento deportivo, el valor del animal, o ambos, debido a la posibilidad de predisponer a ciertas patologías específicas y alterando su estado de bienestar.

La preocupación por este tipo de conducta tiene relación con el efecto perjudicial que estas pueden tener sobre el animal, su salud, su manejo y su rendimiento, ya sea en áreas como la reproducción, salud o deporte y trabajo (32).

Las conductas estereotipadas se clasifican en locomotoras u orales.

Dentro del tipo oral podemos englobar: aerofagia con o sin fijación de los incisivos, lignofagia o comer madera, comer el material de cama, coprofagia.

Y las de tipo locomotor: balanceo estereotipado, caminata estereotipada, patear la pesebrera, manoteo, cabeceo, agresividad.

A continuación, describimos las más frecuentes brevemente:

- **Aerofagia o windsucking, con/sin fijación de los incisivos o crib-biting:** el caballo se fija a un objeto con los incisivos superiores que por lo general es el cerco o puerta del box), retrae el cuerpo aumentando el tono muscular y contrae los músculos de la región cervical y nugal, ingresando aire a la porción craneal del esófago, emitiendo un característico ruido.

Hay caballos comúnmente llamados “tragadores de aire” que tragan aire sin necesidad de fijación, especialmente cuando se eliminan las superficies que se prestan a ello (30).

Esta conducta tiene un patrón diurno definido, presentándose de manera postprandial, con una causal ambiental.

En ocasiones la aerofagia se relaciona con problemas gastrointestinales (33), pudiendo ser una manifestación, o consecuencia de estos, más que de una causa adicional, al generar alivio cuando sufre malestar gastrointestinal.

La consecuencia más común de esta conducta es la dilatación del estómago cuando el aire pasa más allá del esófago, con los subsecuentes episodios de cólico (30,33).

- **Lignofagia o comer madera:** esta conducta consiste en masticar e ingerir madera, tiene un patrón flexible y suele preceder a la conducta de aerofagia (34). El caballo se fija a objetos horizontales para arrancar pedazos de madera, los cuales muchas veces son ingeridos. Se relaciona esta conducta con la falta de fibra en la dieta, encontrándose un aumento en la presentación de ella, en equinos con dietas altas en concentrados u otros alimentos peleteados (34).

Esta conducta genera una disminución significativa de la condición corporal, el desgaste importante de los dientes y el riesgo de ingestión de astillas. Produce hipertonía e hipertrofia de la musculatura cervical.

- **Balanceo estereotipado:** Comúnmente llamado “mal del oso”, es una conducta no deseada, estereotipada de tipo locomotor, presentándose de manera preprandial, y de origen social (35). Está caracterizada por el balanceo de la cabeza o headshaking, pudiendo también involucrar cuello y miembros torácicos y, raramente, los miembros pelvianos.

Algunos autores relacionan esta respuesta con la llegada de comida como una respuesta condicionada a una señal. También afirman que esta conducta puede

surgir como consecuencia de un intento de escape, ya que se ha observado en caballos que han sido separados de sus congéneres, a lo cual responden con un esfuerzo por recobrar contacto social (33).

Esta conducta conlleva un aumento del gasto energético con la consecuente pérdida de peso y que los animales estén físicamente exhaustos (36). Cuando esta conducta se acompaña del balanceo de los miembros anteriores, se ha observado también un desgaste disparejo de los cascos (37,38), un desarrollo asimétrico de masas musculares a nivel de cuello y la exacerbación de problemas ortopédicos concomitantes (35).

- Deambular estereotipado: Se caracteriza por un deambular constante en círculos en una misma dirección dentro del box, alternando direcciones o en forma de ocho. Este deambular se ajusta al tamaño del box e incluso en espacios más amplios, en los que los recorridos son más complejos.

Es una conducta estereotipada locomotora de presentación preprandial.

Esta conducta conlleva un alto gasto energético que produce pérdida de condición física, dolores crónicos de columna, sobre todo en aquellos caballos mantenidos en pesebreras pequeñas, los cuales requieren de círculos más cerrados para realizar la conducta, aumento del desgaste articular y desgaste disparejo de los cascos (38).

En las conductas estereotipadas de tipo oral, los estudios (35) demostraron la presencia de altas densidades de receptores de dopamina D1 y D2 a nivel del núcleo accumbens, respecto a caballos que no presentaban la conducta. El aumento de este tipo de receptores, más una regulación aumentada de los autorreceptores D2 en la porción donde se proyecta esta vía, se interpreta por algunos autores, Cabib y col (1998) como una facilitación de la vía de transmisión dopaminérgica en el mesoaccumbens. Los trabajos (35,39) parecen demostrar que los animales que tienen conductas estereotipadas, pueden presentar una alteración de la fisiología de la dopamina, en el sistema dopaminérgico nigrostriatal, como consecuencia de la actividad prolongada de esta conducta.

La estabulación de los caballos es una forma de manejo cotidiana, principalmente en aquellos destinados a deporte, que dependiendo de las condiciones puede generar modificaciones conductuales debido al cambio desde un ambiente natural por uno artificial, pudiendo alterar su bienestar, su salud y su rendimiento.

Otros factores que se pueden contemplar como estresores son:

- Falta de espacio.
- Cambio de hábitos.
- Pruebas veterinarias.
- Cambio de grupo de congéneres.
- El transporte.
- Cambios de actividad.
- Deporte.

Otra conducta no deseada en los caballos es la agresión. Los motivos de la agresión dirigida hacia un humano son múltiples y no siempre están vinculados al género del caballo.

Podemos encontrarnos con:

- Agresión afectiva relacionada con una respuesta autonómica que incluye interacciones simpático-adrenales. El animal advierte de la posible futura agresión a través gestos amenazantes de su lenguaje corporal. Este tipo de agresión puede estar inducida por dolor, por miedo, interacciones entre machos, por dominancia, protectora, maternal, aprendida y la redirigida, siendo esta última la que se da cuando el caballo no puede dirigir su hostilidad hacia el hecho u objeto que le esté incomodando, por lo que lo redirige hacia otro animal, persona u objeto que tenga cerca, considerándose esta como una conducta anormal reactiva. Se trata de una conducta de conflicto en la que se activan dos sistemas motivacionales, pero sólo uno es expresado dirigiéndose a un objeto o individuo inapropiado (28).
- Agresión no afectiva que suele ocurrir en situaciones predecibles y no es precedida por signos de amenaza. Puede ocurrir durante el juego y las asociadas a la reproducción (40).
- Respuesta defensiva aprendida: en casos de maltrato, en casos de dolor agudo y crónico (41).
- Factores ambientales y manejo: establos pequeños, exceso de luz, exceso de ruido, poca o inadecuada socialización (42).
- Otras causas de agresión que se pueden observar en animales irritables, hipertestosteronismo en hembras, alteraciones en los niveles de serotonina (43), factores genéticos, disfunción cerebral y automutilación (40).

Hasta ahora, ante animales con comportamientos que pueden resultar peligrosos para el profesional que tiene que trabajar con ellos o de manejo complicados, la opción más común es la sedación.

En muchas ocasiones se acude a la sedación química para la realización de los tratamientos, tanto en el ámbito veterinario como en el de la fisioterapia. Todos los sedantes actúan mejor cuando el animal se encuentra en un ambiente tranquilo, colabora a lograr anestias con menores dosis de fármacos combinados, brindando una recuperación postanestésica tranquila.

Todos los fármacos utilizados en la sedación causan:

- Depresión del Sistema Nervioso Central (SNC) y pueden llegar a provocar depresión respiratoria y cardíaca (44,45):
- Prolapso permanente del pene.
- Hipoxemia.
- Disminución de la motilidad gastrointestinal.
- Arritmias cardíacas.

Otra opción de uso frecuente en el manejo de caballos complicados, es el comúnmente denominado puro. Consiste en un palo de madera de 20 a 100 cm con un bucle de cuerda al final. Esta cuerda se retuerce alrededor del labio superior del caballo y se gira el palo para aumentar la presión sobre esta zona. Con esto se logra que el caballo esté, en apariencia, más tranquilo y con mayor tolerancia al dolor. Aunque no todos los caballos responden igual y puede despertar más agresividad en el ejemplar ante este fuerte estímulo nociceptivo (46).

Antes de decantarse por la sedación, por la aplicación del puro o por la castración como medios para lograr un mejor manejo del caballo, es necesario contemplar otras opciones y la aplicación de la acupuntura para inducir un estado de relajación en el caballo y facilitar así su manejo (47) puede ser una de ellas.

### c. Respuestas neuroendocrinas

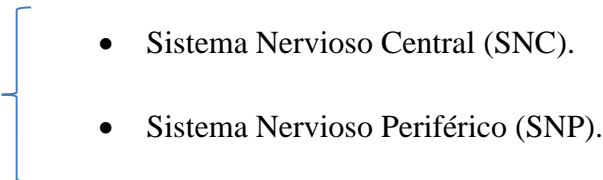
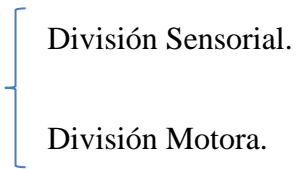
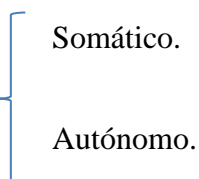
Los órganos de los sentidos y demás exteroceptores, recogen la información del medio que los rodea, los interpreta y da respuesta voluntaria o involuntaria gracias al Sistema Nervioso.

#### c.1. Sistema Nervioso (SN)

El Sistema Nervioso tiene como función, recoger la información sensitiva de todo el organismo, a través de los nervios periféricos, y llevarla hasta médula y encéfalo, lugares en los cuales dicha información se integra y, se procesa para que, consecuentemente, se produzca una respuesta a esos estímulos, enviando señales a los órganos efectores, para obtener una respuesta motora, visceral o glandular (48).

##### c.1.1. División

El Sistema Nervioso puede dividirse atendiendo a:

- Localización anatómica 
  - Sistema Nervioso Central (SNC).
  - Sistema Nervioso Periférico (SNP).
  
- Función 
  - División Sensorial.
  - División Motora.
  
- Control 
  - Somático.
  - Autónomo.

### c.1.1.1. División del SN según la localización anatómica

El SN está organizado anatómicamente en una división central y una división periférica.

El SNC está formado por el encéfalo (cerebro, cerebelo, bulbo raquídeo y tubérculos cuadrigéminos) y la médula espinal.

El SNP está constituido por los nervios que salen desde la médula espinal y los pares craneales que salen del encéfalo. Se clasifica en función del tipo de control que ejerce en: Sistema Nervioso Somático, responsable del control de los movimientos voluntarios de la musculatura estriada y Sistema Nervioso Vegetativo o Autónomo, responsable de los movimientos involuntarios, éste a su vez se divide en Sistema Nervioso Autónomo Simpático (SNAS), Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático (SNAP) y Sistema Nervioso Autónomo Entérico (SNAE) que regulan el control visceral y la musculatura involuntaria (48,49).

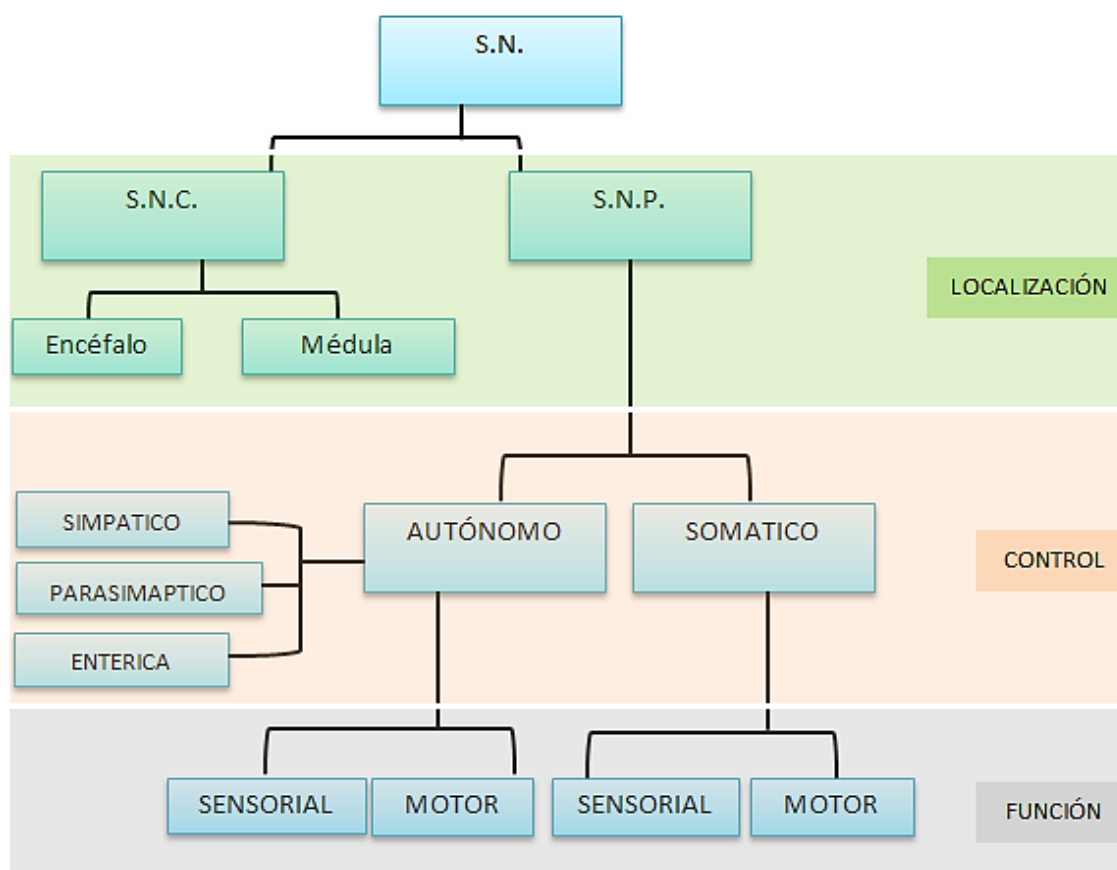
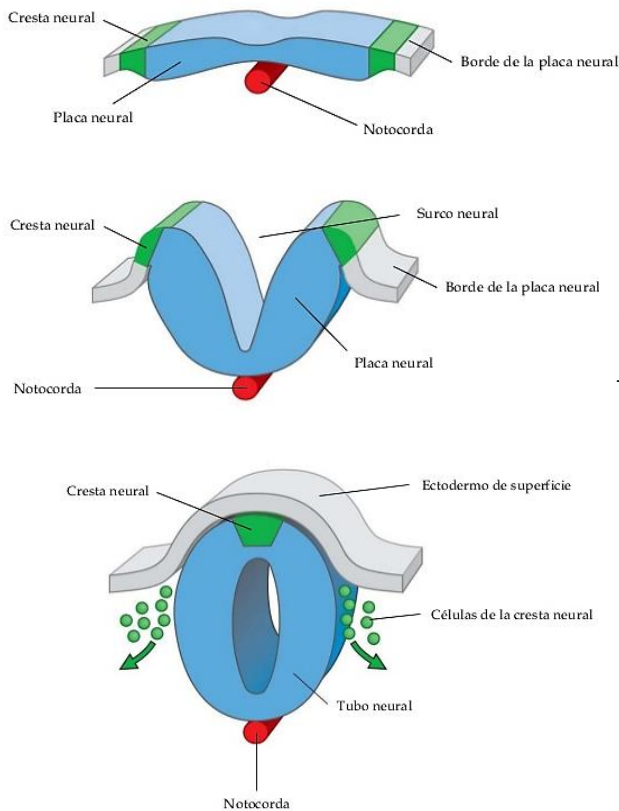


Imagen 2.- Divisiones del Sistema Nervioso atendiendo a la localización, al control que ejerce y a la función que realiza.

Embriológicamente, el SNC se desarrolla a partir del ectodermo que forma el tubo neural. El cerebro se divide en los hemisferios cerebrales, el tronco encefálico y el cerebelo. Las cinco principales áreas del cerebro son el telencéfalo (cerebro), el diencéfalo, el mesencéfalo, el metencéfalo y el mielencéfalo (50).



*Imagen 3.- Formación del surco neural a partir de las crestas de la placa neural y formación del tubo neural.*

*Fuente:*

*<http://www.revistapsicologia.org/index.php/revista>*

Las divisiones anatómicas del cerebro basadas en la embriología (51,52) son:

1. Prosencéfalo o encéfalo anterior:

- a. Telencéfalo o cerebro: hemisferios pareados que contienen los ventrículos laterales.
- b. Diencéfalo: contiene el tálamo, el hipotálamo y el tercer ventrículo.

2. Mesencéfalo o encéfalo medio: mesencéfalo que contiene el estrecho acueducto mesencefálico.

3. Rombencéfalo o encéfalo posterior:

a. Se divide en dos segmentos y contiene el cuarto ventrículo.

b. Metencéfalo: contiene la protuberancia ventral y el cerebelo dorsalmente.

c. Mielencéfalo o bulbo raquídeo: médula oblonga

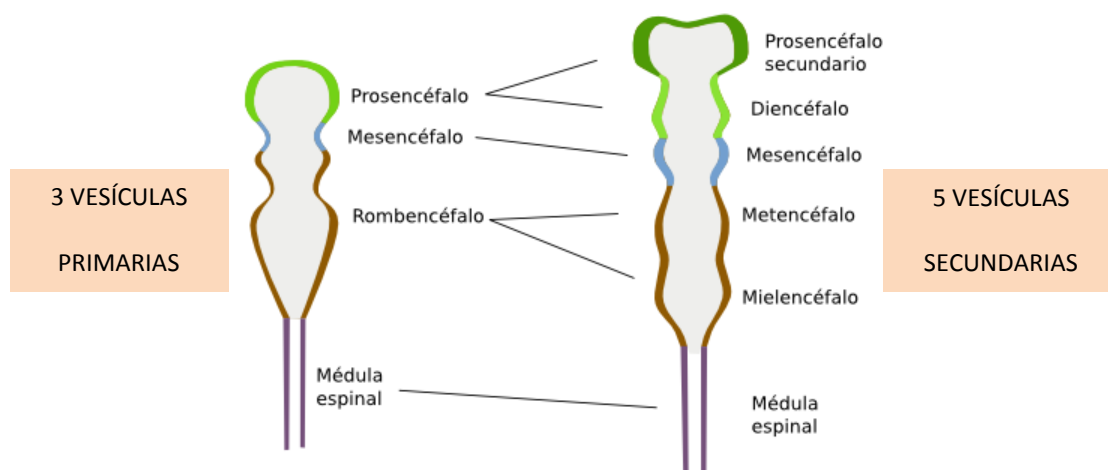


Imagen 4. Desarrollo embrionario del SNC. Fuente: <https://psicologosblog.com/2015/11/22/desarrollo-sistema-nervioso/>

<b>Estructura en embrión temprano</b>	<b>Estructura en embrión tardío</b>	<b>Estructura en adulto</b>	<b>Función de la estructura</b>
<b>Prosencéfalo (encéfalo anterior)</b>	telencéfalo	cerebro	controla movimientos de músculos voluntarios, centro de percepción consciente de tacto, presión, dolor, temperatura, gusto; integración y proceso de datos sensoriales
	diencéfalo	tálamo e hipotálamo	integra la información que llega al tálamo y la retransmite a los lóbulos frontales del cerebro, controla funciones autónomas, apetencias, sed, hambre, estados emocionales
<b>Mesencéfalo (encéfalo medio)</b>	mesencéfalo	lóbulos ópticos, núcleos del mesencéfalo	integra la información visual con otras informaciones y transmite la información auditiva y el control involuntario del tono muscular
<b>Rombencéfalo (encéfalo posterior)</b>	metencéfalo	cerebelo, puente	Coordinación involuntaria, equilibrio, tono muscular, postura. Une el cerebelo con otros centros encefálicos, el bulbo y la médula espinal
	mielencéfalo	médula oblonga (bulbo raquídeo)	regula el ritmo cardíaco, tono vasomotor, respiración, deglución

Esquema 1.- Esquema de la evolución de las diferentes estructuras del SNC.

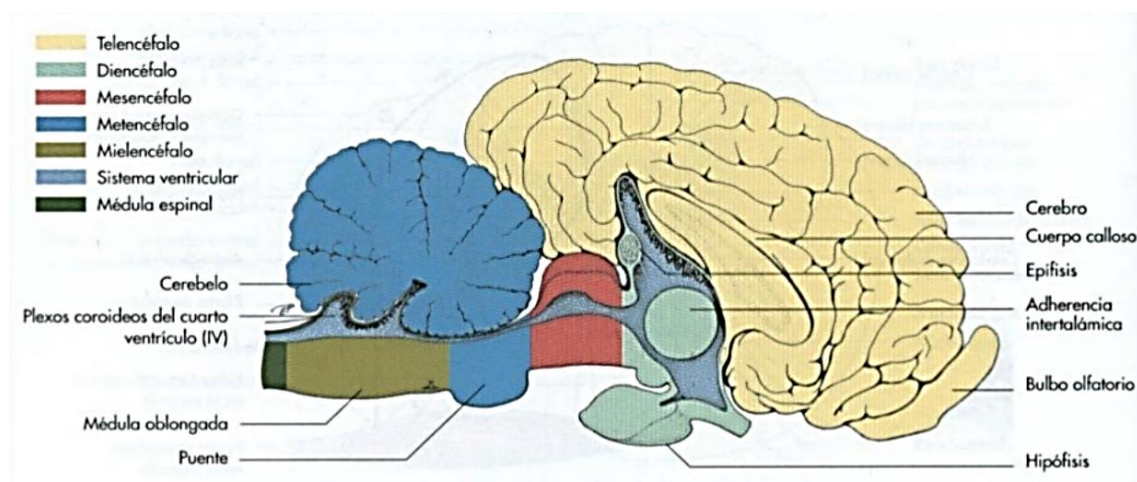


Imagen 5. Representación esquemática del encéfalo de un equino. Fuente: <https://es.slideshare.net/oyentesyparlantes/sistema-nervioso-actualizacion>

El encéfalo se aloja en el interior del cráneo, en el cual podemos distinguir los hemisferios cerebrales, el cerebelo y el tronco encefálico (49,53). Este último da origen a la médula espinal, ubicada y protegida por la columna vertebral. Estos elementos están formados por numerosas estructuras de procesamiento de la información sensitiva (los núcleos de las neuronas ubicadas en la sustancia gris) y, al mismo tiempo, por tractos de fibras nerviosas (axones de las neuronas), que transportan la información a los centros de procesamiento y conectan unas estructuras con otras (formando la sustancia blanca) (54,55).

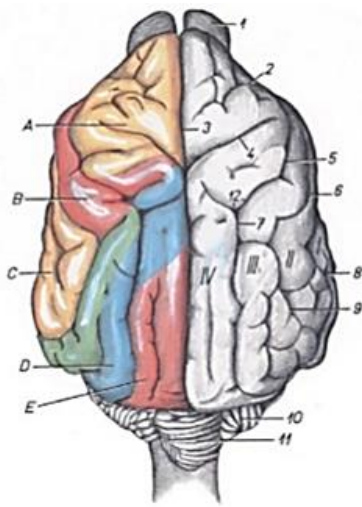
La estructura del cerebro está formada por axones con mielina que constituyen la materia blanca. La parte exterior, corteza cerebral, está integrada por cuerpos neuronales y axones sin mielina, lo que le proporciona color gris. En el cerebro existe un gran surco que lo divide en dos hemisferios derecho e izquierdo. También existen otras hendiduras que, según sean más o menos profundas, se denominan cisuras y surcos, respectivamente. Las cisuras permiten distinguir cuatro regiones en cada hemisferio: lóbulo frontal, parietal, temporal y occipital (56).

**Lóbulo Frontal:** este lóbulo contiene, principalmente, la corteza motora primaria que incluye las neuronas responsables de las funciones motoras voluntarias, especialmente las respuestas aprendidas o expertas. Las principales vías motoras son las vías córticoespinales.

**Lóbulo Parietal:** contiene principalmente la corteza somatosensorial primaria. Este lóbulo funciona, en gran medida, para la percepción consciente del tacto, la presión, la temperatura y los estímulos nociceptivos.

**Lóbulo Temporal:** este lóbulo contiene neuronas de la corteza auditiva y comparte algunas funciones con el lóbulo parietal, como son la comprensión del lenguaje y los sonidos, la memoria y el aprendizaje.

**Lóbulo Occipital:** este lóbulo contiene la corteza visual primaria.



*A. Área motora*

*B. Área sensorial*

*C. Área auditivosensorial*

*D. Área parietal*

*Imagen 6. Encéfalo. Vista de la superficie dorsal del encéfalo mostrando los Lóbulos. Fuente: <https://es.slideshare.net/oyentesyparlantes/sistema-nervioso-48311090>*

Del cerebro parten o llegan los nervios craneales que inervan distintos órganos de la cabeza, como los ojos, la lengua, etc.

La médula espinal comprende la sustancia blanca periférica, compuesta por los tractos nerviosos. Los tractos se organizan en vías motoras específicas (eferentes) y sensoriales (aferentes). La materia gris se localiza centralmente y está compuesta de interneuronas y neuronas motoras que inervan el músculo.

Las divisiones de la médula espinal son (53,57):

1. La médula espinal se divide en segmentos numerados en cada región de la columna vertebral: cervical (C), torácica (T), lumbar (L), sacra (S), coccígea o caudal (Cd).

2. Los segmentos de la médula espinal también se dividen en segmentos funcionales, tales como C1-C5, C6-T2, T3-L3, L4-S1 y S1-S3.

El Sistema Nervioso Periférico (SNP) está formado por:

- Plexos nerviosos.
- Ganglios nerviosos.
- Nervios craneanos.
- Nervios espinales.

Se encuentra constituido por una gran cantidad de nervios que, funcionalmente, se clasifican en dos tipos (54): fibras aferentes, que “transportan” la información sensitiva a la médula y encéfalo y, fibras eferentes que emiten la información motora desde los centros superiores y médula hacia los músculos y órganos. Algunos nervios salen directamente del encéfalo, innervando principalmente la cabeza, son los nervios craneales. Los nervios que salen de la médula son los nervios espinales (54,55). El Sistema Nervioso Periférico tiene como función, recoger la información sensitiva de todo el organismo, a través de los nervios periféricos y, llevarla hasta médula y encéfalo, lugares en los cuales dicha información va a ser procesada para que, consecuentemente, se produzca una respuesta a esos estímulos, enviando señales a los órganos efectores, para obtener una respuesta motora. La neurona aferente, sensitiva, transporta un impulso nervioso desde los diferentes receptores sensitivos (receptores de propiocepción, presión, dolor, etc.) hasta la médula, donde hace sinapsis con una segunda neurona eferente, motora, para desencadenar la respuesta motora. Esta unidad básica, de una respuesta motora a un estímulo sensitivo, a nivel medular, se denomina arco reflejo (56). La información sensitiva viaja a los centros superiores del encéfalo, y la respuesta motora, se realiza a dos niveles; en primer lugar en una neurona motora superior que viaja por el encéfalo y médula y, hace sinapsis con las interneuronas en el asta ventral de la sustancia gris de la médula, para volver a hacer sinapsis con la neurona motora inferior que lleva la información hasta los músculos. Por ello, se define el Sistema Motor Eferente, como el formado por la Neurona Motora Superior (NMS), ubicada en el SNC, y la Neurona Motora

Inferior (NMI), cuyo soma neuronal se encuentra en el asta ventral de la sustancia gris de la médula espinal, y los axones se proyectan sobre los músculos estriados (54,56,58). Por otro lado, la inervación simpática y parasimpática de la misma estructura es usualmente antagónica (55). El sistema nervioso simpático prepara al cuerpo para la clásica respuesta de “pelear o escapar”. La inervación parasimpática promueve las funciones corporales de “descanso y recuperación” (59,60,61).

#### **c.1.1.2. División del SN según el control que ejerce**

- Somático: controla el movimiento muscular voluntario.

Está formado por nervios periféricos y ganglios. Los nervios, según su origen, se dividen en 2 clases: nervios craneales y nervios espinales o raquídeos.

**Nervios craneales (62):** son 12 pares que nacen de distintas partes del cerebro. Es posible encontrar neuronas sensoriales (las cuales llevan la información, proveniente de los receptores de los órganos de los sentidos y, de receptores especiales en el encéfalo), neuronas motoras (conducen la información desde el cerebro a los músculos faciales) y nervios mixtos (que transmiten información sensorial y motora).

**Nervios raquídeos:** son 31 pares que emergen desde cada lado de la médula espinal. Se consideran nervios mixtos porque llevan la información eferente o motora, que sale desde la médula espinal.

El control de los movimientos voluntarios es complejo. Muchos sistemas diferentes, a través de numerosas áreas cerebrales, necesitan trabajar juntos para asegurar un control motor adecuado. Las neuronas del sistema motor envían sus axones desde niveles más altos del SNC para regular e influir en la actividad de las neuronas motoras en el tronco encefálico y a la médula espinal para inervar estructuras diana en la periferia. Las neuronas motoras en los niveles superiores del SNC, se definen como neuronas motoras superiores (NMS) y, las neuronas motoras que envían sus axones para proporcionar inervación motora a objetivos periféricos, se definen como neuronas motoras inferiores (NMI).

<b>Nervio craneal</b>	<b>Tipo</b>	<b>Número</b>	<b>Función</b>
<b>Olfatorio</b>	Sensitivo	I	Olfato
<b>Óptico</b>	Sensitivo	II	Visión
<b>Vestíbulooclear</b>	Sensitivo	VIII	Equilibrio y audición
<b>Óculomotor</b>	Motor	III	Músculos extraoculares
<b>Troclear</b>	Motor	IV	Músculos extraoculares
<b>Patético</b>	Motor	VI	Músculos extraoculares
<b>Espinal</b>	Motor	XI	Músculos de la faringe, laringe y musculatura cervical
<b>Hipogloso</b>	Motor	XII	Musculatura de la lengua
<b>Trigémino</b>	Mixto	V	Sensación facial, musculatura masticatoria
<b>Facial</b>	Mixto	VII	Sensación del gusto, musculatura de expresión facial, función parasimpática de salivación y lagrimeo
<b>Glossofaríngeo</b>	Mixto	IX	Sensibilidad de la faringe, el gusto, musculatura de la deglución, parasimpático de la salivación
<b>Vago</b>	Mixto	X	Sensibilidad de faringe y laringe, parasimpático de órganos torácicos y abdominales

Esquema 2.- nervios craneales según tipo y función

Los tractos descendentes de la médula espinal están formados por axones de NMS que descienden a través del cerebro y la médula espinal, para proporcionar una influencia reguladora en las células motoras inferiores.

A diferencia del sistema nervioso autónomo, sólo hay una NMI en esta cadena, es decir, una NMS hace sinapsis con una NMI, cuyo axón entonces influye en un número de fibras del músculo esquelético en la periferia.

- **Autónomo:** controla la función de los diferentes sistemas viscerales del organismo (63,64).

El sistema nervioso autónomo (SNA) o vegetativo, es un componente importante del sistema nervioso periférico. Está constituido por un complejo conjunto de neuronas y vías nerviosas que controlan la función de los diferentes sistemas viscerales del organismo (65,66,67). Su función global consiste en mantener la situación de homeostasis del organismo y, efectuar las respuestas de adaptación ante cambios del medioambiente externo e interno. El SNA, a través de los tres componentes eferentes que lo integran –simpático, parasimpático y entérico–, inerva el músculo cardíaco, el músculo liso de todos los órganos y las glándulas exocrinas y endocrinas. Así, regula la respiración, la circulación, la digestión, el metabolismo, la secreción glandular, la temperatura corporal, la reproducción y, además, coordina todas estas funciones vitales para mantener la homeostasis. Este sistema, como su propio nombre indica (autónomo o vegetativo) no se encuentra sujeto al control voluntario o consciente.

El SNA está integrado por vías aferentes viscerales, centros de integración, especialmente en el hipotálamo y el córtex cerebral, y vías eferentes viscerales, simpáticas y parasimpáticas (65) de forma que el SNA se extiende tanto en el sistema nervioso central como en el periférico.

Las vías efectoras de los sistemas simpático y parasimpático constan, típicamente, de una cadena de dos neuronas. Una neurona preganglionar, cuyo soma se localiza en el SNC y envía su axón para sinaptar con una neurona posganglionar, cuyo soma está en un ganglio autonómico que, a su vez, inerva los órganos efectoras. Los ganglios simpáticos se sitúan cerca de la médula espinal, para o prevertebrales, con lo que las fibras posganglionares tienen un trayecto relativamente largo. Por el contrario, los ganglios parasimpáticos yacen cerca o dentro de las estructuras viscerales, lo que resulta en fibras posganglionares cortas. Las fibras

preganglionares son, mielínicas delgadas de tipo B o, amielínicas C, mientras que las posganglionares son mayoritariamente amielínicas (66,67).

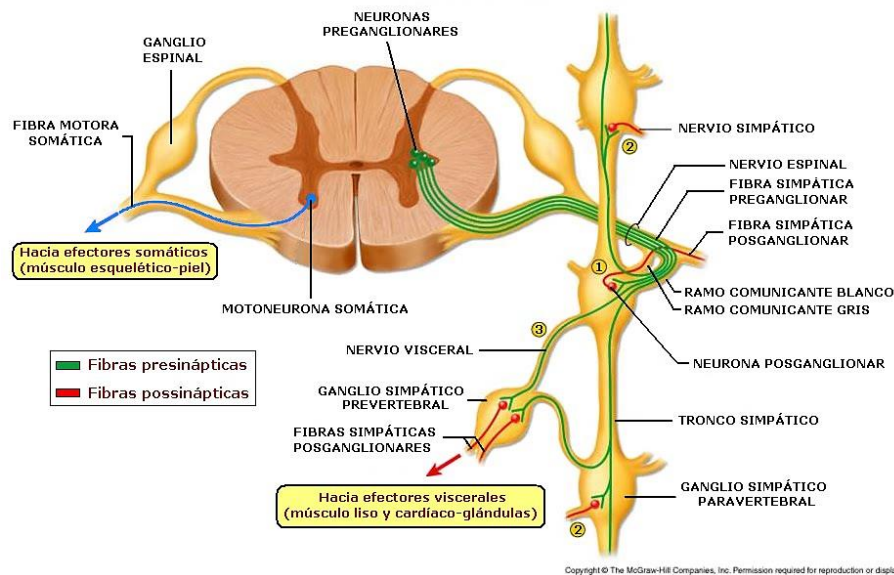


Imagen 7. Esquema de las vías eferentes del SNA.

Fuente: <https://es.slideshare.net/oyentesyparlantes/sistema-nervioso-48311090>

La mayor parte de las vísceras recibe una inervación doble del SNA, tanto por parte del simpático como del parasimpático. En general, las dos divisiones funcionan integradamente en el control visceral y ejercen efectos opuestos sobre cada órgano. Algunas estructuras viscerales, como las glándulas sudoríparas o la mayoría de los vasos sanguíneos, reciben inervación solamente de uno de los dos sistemas.

El papel del SNA, es el de ajustar continuamente el funcionamiento de los órganos y sistemas, de acuerdo con estímulos tanto internos como externos. El SNA ayuda a mantener la homeostasis (estabilidad interna y equilibrio) a través de la coordinación de diversas actividades, tales como, la secreción hormonal, la circulación, la respiración, la digestión y la excreción (68,69).

Esta parte del SN se divide en tres subsistemas: sistema nervioso autónomo simpático (SNAS), sistema nervioso autónomo parasimpático (SNAP) y sistema nervioso autónomo entérico (SNAE).

El SNAS controla funciones necesarias para la lucha o la huida. El SNAP está relacionado con funciones de preservación de las reservas corporales. Ambos sistemas ejercen funciones antagónicas en aquellos órganos que tienen una inervación mixta.

El SNAE se considera como un tercer componente que recibe aferencias simpáticas, a través del nervio vago y los nervios pélvicos, y aferencias parasimpáticas de los ganglios celiaco, mesentérico craneal y mesentérico caudal. Controla directamente el sistema digestivo: esófago, estómago, intestino delgado y colon (70).

El SNAS emerge desde la médula espinal torácica y los primeros segmentos lumbares. Las neuronas preganglionares simpáticas tienen sus cuerpos en la columna intermedio-lateral de la médula espinal, entre los segmentos T1 y L2, de ahí el nombre “toracolumbar”. Sus fibras abandonan la médula a través de los ramos comunicantes blancos y terminan en algunos de los ganglios de la cadena simpática o en la médula adrenal. Los ganglios de la cadena simpática pueden ser: ganglios paravertebrales, los cuales se extienden desde la base del cráneo hasta el sacro y los ganglios prevertebrales (celíaco, mesentérico superior y mesentérico inferior). La mayoría de los ganglios simpáticos se ubican a cierta distancia del órgano al cual inervan, por lo cual las fibras preganglionares son cortas y mielínicas y las fibras postganglionares son largas y amielínicas.

Las fibras preganglionares pueden seguir diferentes caminos:

1. Pueden realizar sinapsis con las neuronas postganglionares, correspondientes a su nivel o de niveles superiores o inferiores, del ganglio a través del ramo comunicante gris. Tras unirse a nervios periféricos inervarán vasos sanguíneos, glándulas sudoríparas y músculos piloerectores de territorios cutáneos o musculares.

2. Pueden seguir distancias variables a través de la cadena simpática prevertebral para inervar los nervios espláncnicos, que forman sinapsis en los ganglios prevertebrales. A su salida del ganglio pueden formar plexos que, están relacionados con la inervación autónoma hacia las vísceras abdominales y pélvicas.

3. Las fibras preganglionares de las raíces torácicas superiores pueden realizar sinapsis en los ganglios cervicales, para inervar estructuras craneales a través del ganglio cervical superior, u órganos torácicos (corazón, pulmones y vísceras) a través del ganglio cervical medio y el ganglio estrellado (71).

4. Pueden atravesar la cadena ganglionar y sinaptar directamente con las células cromafines de la médula adrenal.

Cada neurona preganglionar simpática puede hacer sinapsis con 20-30 neuronas postganglionares, que se distribuyen por distintos órganos; esto explica, la respuesta difusa y masiva de la estimulación simpática en todo el organismo, respuesta que, a su vez, es aumentada por la liberación de epinefrina por la médula adrenal.

En el SNAP, los cuerpos celulares de las neuronas preganglionares parasimpáticas, se ubican en el tronco del encéfalo y en la columna lateral de la médula sacra, de ahí el nombre “sistema craneosacro”. Las fibras de los axones que conforman el sistema nervioso parasimpático son, en su mayoría, amielínicas, siendo muy pocas las fibras mielínicas. Los ganglios parasimpáticos se localizan, cerca de los órganos a los que inervan o en el propio órgano, por tanto, las fibras preganglionares son largas y las fibras postganglionares cortas.

Los núcleos eferentes viscerales de la porción craneal están distribuidos en los nervios craneales (62):

- III (Nervio oculomotor). Núcleo de Edinger-Westphal. Las fibras preganglionares del nervio oculomotor salen del tronco encefálico para hacer sinapsis con fibras postganglionares en los ganglios ciliar y epiescleróticos del ojo. De aquí surgen fibras postganglionares que inervan el músculo constrictor de la pupila en el iris (mediando la constricción pupilar o miosis) y el pequeño músculo de los cuerpos ciliares (mediando la acomodación del cristalino).
- VII (Nervio facial). Núcleo salivatorio superior y lagrimal. Núcleo salivatorio inferior. Las fibras preganglionares parasimpáticas del nervio facial están distribuidas en tres vías. Algunas pasan por el ganglio esfenopalatino (pterigopalatino), a partir del cual, las fibras postganglionares inervan las glándulas lagrimales, nasales y orales y músculos lisos asociados. Una segunda vía sigue la cuerda timpánica e inerva las glándulas salivales submandibulares y sublinguales y la tercera vía, pasa directamente a estas mismas glándulas.
- IX (Nervio glossofaríngeo). Las neuronas preganglionares del nervio glossofaríngeo pasan a través del ganglio óptico al plexo timpánico, desde donde las fibras postganglionares inervan las glándulas salivales parótidas y orbitales.
- X (Nervio vago). Núcleo dorsal del vago y núcleo ambiguo. Las fibras preganglionares del nervio vago salen juntas del bulbo raquídeo, el cual aporta

inervación parasimpática a todas las estructuras viscerales, desde la región faríngea caudal hasta las porciones superiores del colon.

Las fibras preganglionares parasimpáticas llegan a ganglios terminales distribuidos en las paredes de los órganos efectores que, a través de las fibras postganglionares, inervan a las vísceras de cabeza y cuello, la cavidad torácica y gran parte de las vísceras de la cavidad abdominal.

En las columnas intermediolaterales de los segmentos sacros segundo y cuarto, se encuentran las neuronas preganglionares parasimpáticas que distribuyen sus fibras por las raíces anteriores, formando así los nervios pélvicos y ganglios pélvicos, dando lugar finalmente al plexo pélvico, responsable de la innervación del colon descendente y órganos urogenitales.

El sistema digestivo se inerva a través de sus conexiones con el SNC y con el SNAE (72) dentro de la pared del tracto gastrointestinal. El SNAE trabaja en conjunto con los centros de control y reflejo del SNC y con vías neurales, que pasan a través de los ganglios simpáticos para controlar la función digestiva. Hay un flujo de información bidireccional entre el SNAE y el SNC y, entre el SNAE y los ganglios prevertebrales simpáticos. El SNAE contiene 200-600 millones de neuronas, distribuidas en miles de pequeños ganglios, la gran mayoría de los cuales se encuentran en dos plexos: el plexo Mientérico o de Auerbach y el plexo Submucoso o de Meissner.

El plexo Mioentérico forma una red continua que se extiende desde el esófago superior hasta el esfínter anal interno. Los ganglios submucosos y los haces de fibras de conexión forman plexos en el intestino delgado y en el intestino grueso, pero no en el estómago y el esófago. Las conexiones entre el SNAE y el SNC son llevadas por el nervio vago, los nervios pélvicos y vías simpáticas. Las neuronas también se proyectan desde el SNAE hasta los ganglios prevertebrales, la vesícula biliar, el páncreas y la tráquea. Los papeles relativos del SNAE y del SNC difieren considerablemente a lo largo del tracto digestivo. Los movimientos del esófago muscular estriado son determinados por generadores de patrones neuronales en el SNC. Del mismo modo, el SNC tiene un papel importante en el control del estado del estómago y, a su vez, controla su actividad contráctil y la secreción ácida, a través de reflejos vaso-vagales. Por el contrario, el SNAE en el intestino delgado y en el colon, contiene circuitos reflejos completos, incluyendo neuronas sensoriales, interneuronas y varias clases de neuronas motoras, a través de las cuales se controlan la actividad muscular,

los flujos de fluidos transmucosales, el flujo sanguíneo local y otras funciones. El plexo Mientérico o de Auerbach es responsable de los movimientos intrínsecos gastrointestinales (70,73).

El plexo submucoso o de Meissner se encarga de la secreción gastrointestinal, de la regulación de la digestión y del flujo sanguíneo local, de acuerdo con la estimulación producida por los nutrientes. Se trata de una red continua desde el esófago hasta el esfínter anal externo, situada entre la capa interna de la capa muscular circular y la submucosa y, está más desarrollado en el intestino delgado y colon (74).

### **c.1.1.3. División del SN según la función (75)**

- **División sensorial o aferente:**

- Fibras somatosensoriales que conducen impulsos desde la piel (que forma parte del SNP), músculos esqueléticos y receptores articulares hasta el SNC.
- Fibras víscerosensoriales que conducen impulsos desde los órganos al SNC.

Los nervios periféricos espinales y craneales transmiten información aferente, o sensorial, de las estructuras somáticas y viscerales. Impulsos nociceptivos, información de la temperatura, tacto, movimiento y propiocepción, viajan a través de las fibras periféricas de los nervios espinales, formando un sistema aferente somático.

Los receptores viscerales, como parte del sistema aferente, detectan los impulsos sensoriales que se originan en las vísceras, relacionados con cambios de temperatura, presión sanguínea, concentraciones de gas y químicas, la distensión y el movimiento de los órganos del cuerpo. Para la división espinal de los nervios periféricos, los cuerpos de las células sensoriales están segmentados y se localizan en los ganglios de la raíz dorsal. Los axones de estas células sensoriales primarias, suelen hacer sinapsis en la sustancia gris del asta dorsal de la médula.

La información asciende a los centros superiores del sistema nervioso, o participa en actividades locales de reflejos.

- **División motora o Eferente:**

- Transmite impulsos desde el SNC a los órganos efectores que pueden ser músculos o glándulas (SNP).

Las neuronas motoras se distribuyen a lo largo de la médula espinal, en la sustancia gris del asta ventral de la médula. Las fibras motoras salen de la médula espinal para viajar a través de los nervios espinales y proporcionar inervación a la musculatura esquelética del cuerpo. La inervación motora de los músculos de la cabeza, viaja a través de los nervios craneales. Las fibras nerviosas motoras van a través de unos nervios craneales determinados, para proporcionar inervación autonómica, como se ha descrito previamente.

Los nervios craneales con función motora se originan a partir de núcleos repartidos por el tronco encefálico.

Entre la división sensorial y la división motora se encuentran las neuronas asociativas o interneuronas, situadas exclusivamente en el SNC y cuya función es la de integrar la información recibida y participar en el procesamiento de esta, tanto en circuitos de reflejos simples como en circuitos más complejos en el cerebro.

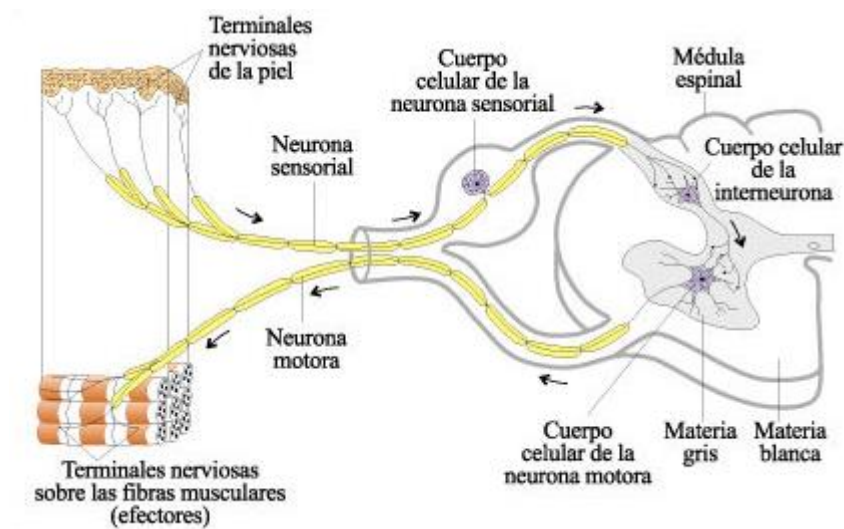


Imagen 8.- Esquema de la localización de la interneurona y cómo conecta la parte aferente con las fibras eferentes o motoras. Fuente: <http://docentes.educacion.navarra.es/metayosa/3esorela2.html>

### **c.1.2. Funciones del SNA**

#### **Activación del SNAS**

El SNAS puede activarse de forma masiva cuando el hipotálamo es estimulado por un determinado hecho, como un estímulo doloroso o emocional importante y, como consecuencia, se produce una reacción generalizada en todo el organismo, conocida como reacción de alarma o de estrés (76,77), también denominada reacción de lucha o huida (“fight or flight”).

Esta estimulación produce variaciones en las funciones viscerales, con el objeto de salvaguardar la integridad del organismo y garantizar la supervivencia.

Las variaciones viscerales de las que hablamos son:

- Dilatación pupilar, que aumenta el campo visual.
- Piloerección, para aparentar más corpulencia.
- Sudoración, para perder el calor producido por la activación muscular.
- Aumento de la actividad cardíaca y de la presión arterial, favoreciendo así el aporte sanguíneo muscular.
- Broncodilatación, aumentando la captación de oxígeno en el pulmón.
- Aumento de la glucemia.
- Inhibición de las funciones digestivas.
- Inhibición de las funciones urinarias y genitales.

La estimulación del SNAS tiene efectos bastante generales en el organismo, ya que existe un alto grado de ramificación axonal entre fibras preganglionares y fibras postganglionares. Esto quiere decir que cada axón preganglionar puede sinaptar con una media de 120 neuronas (78). Por otro lado, la activación del SNAS genera una respuesta neurohormonal de la médula adrenal que libera catecolaminas al torrente sanguíneo que pueden actuar directamente sobre los órganos efectores.

En cambio las neuronas preganglionares del SNAS no se estimulan de manera generalizada, ya que forman unidades funcionales separadas que generan un control determinado y específico sobre un órgano efector.

### **Activación del SNAP**

Al contrario de lo que ocurre con el sistema nervioso simpático, el sistema nervioso parasimpático se relaciona con procesos de descanso (“rest and digest”) y, su activación genera protección de las funciones y conservación de la energía.

Su estimulación puede promover respuestas como:

- Constricción pupilar, protegiendo la retina de un exceso de luz.
- Disminución de la frecuencia respiratoria (FR), para evitar un gasto cardiaco elevado.
- Broncoconstricción, para proteger los pulmones.
- Aumento de la motilidad y secreciones digestivas, favoreciendo la digestión.
- Actividad urinaria y micción.
- Actividad genital (erección).

Las respuestas de la activación del SNAP son más localizadas en un órgano efector, ya que cada neurona preganglionar sinapta con pocas neuronas postganglionares.

### **Interacción entre SNAS y SNAP**

El SNA está íntimamente relacionado con el control de la función de los órganos viscerales de diferentes maneras. Ambos sistemas mantienen una actividad constante que se conoce como tono simpático y tono parasimpático. Esto permite que en un momento dado, la actividad de cada uno de ellos aumente o disminuya.

Hay zonas que reciben inervación de un solo sistema, en cuyo caso dependen de las variaciones de la frecuencia de descarga de impulsos de ese sistema.

Otros órganos efectores se encuentran inervados por ambos sistemas, simpático y parasimpático, en este caso, la actividad de éste depende del equilibrio o interacción entre las señales de estos sistemas antagónicos.

El SNA libera mensajeros químicos (77) para influir en sus órganos efectores. Los más comunes son la norepinefrina (NE) y la acetilcolina (Ach). Todas las neuronas presinápticas utilizan Ach como neurotransmisor. La Ach también es liberada por algunas neuronas simpáticas postsinápticas y por todas las neuronas postsinápticas parasimpáticas.

Las fibras secretoras de NE se denominan adrenérgicas y las que secretan Ach, colinérgicas. Todas las neuronas preganglionares, tanto las del SNAS como las del SNAP, son colinérgicas. Las neuronas postganglionares de la división parasimpática también son colinérgicas. En cambio, las neuronas postganglionares simpáticas son adrenérgicas y secretan NE, excepto las que van a las glándulas sudoríparas y a una minoría de vasos sanguíneos que son colinérgicas. Las neuronas postganglionares de la médula adrenal, que son las células cromafines, secretan sobre todo epinefrina y muy poca cantidad de NE.

En el SNAS, las catecolaminas (norepinefrina y epinefrina) actúan sobre receptores específicos situados en la superficie celular de los órganos efectores. Son los receptores adrenérgicos.

**Tipos de receptores adrenérgicos:**

- **Receptores Alfa 1 ( $\alpha 1$ ):** situados generalmente a nivel postsináptico, producen un aumento o una disminución del tono muscular, dependiendo del órgano efector, produciendo constricción del músculo liso, excepto en el sistema gastrointestinal donde provoca relajación, generando una disminución de la motilidad gastrointestinal.
- **Receptores Alfa 2 ( $\alpha 2$ ):** al ser capaces de unirse tanto a la epinefrina como a la norepinefrina, reducen el efecto de los receptores  $\alpha 1$ . Se encuentran localizados a nivel pre y postsináptico. La mayoría de receptores postsinápticos  $\alpha 2$  son extrasinápticos, están más influenciados por las hormonas catecolamínicas que por los neurotransmisores y, la interacción agonista-receptor tiene un inicio más lento y una duración más prolongada. Específicamente sus efectos son: vasoconstricción (más en el territorio venoso), agregación plaquetaria, inhibición de la liberación de insulina, inhibición de la lipólisis e inhibición de la liberación de renina.
- **Receptores Beta 1 ( $\beta 1$ ):** sensibles a la epinefrina y norepinefrina. Se encuentran localizados a nivel postsináptico y se encuentran innervados. Predominan en el miocardio, nodo sinusal y en el sistema de conducción ventricular. A nivel cardiaco, la interacción agonista-receptor, aumenta el inotropismo y el cronotropismo, aumentando la frecuencia cardiaca (FC); en el tejido adiposo estimulan la lipólisis. También producen estimulación de las glándulas salivares.

- **Receptores Beta 2 ( $\beta_2$ ):** Localizados a nivel postsináptico, se consideran no inervados y responden, principalmente, a la epinefrina circulante, a la que son más sensibles. Su estimulación provoca relajación del músculo liso con vasodilatación, broncodilatación, relajación uterina, etc. Se encuentran también en el páncreas endocrino, estimulando la secreción de insulina, y en el hígado estimulando la glucógenolisis y la gluconeogénesis; en las glándulas salivares aumentan la secreción de amilasa. Los  $\beta_2$  tienen un papel en la regulación del flujo sanguíneo renal, ocasionando una respuesta vasodilatadora. En los músculos esqueléticos y cardíaco produce un aumento de la velocidad de contracción.
- **Receptores Beta 3 ( $\beta_3$ ):** situados en los adipocitos del tejido adiposo, su función principal es la activación de la lipólisis y, con ello, el mantenimiento de la termogénesis. La activación de estos receptores beta-adrenérgicos produce una liberación de norepinefrina (NE). La NE tiene un papel principal sobre el tejido adiposo blanco y los adipocitos marrones, estimulando la lipólisis (48).

### **Receptores dopaminérgicos (DA)**

Se localizan tanto en el SNC como en los vasos sanguíneos y neuronas postganglionares del SNAS (79). Divididos en dos tipos principales: DA1 y DA2, su importancia fisiológica es discutida, ya que a nivel periférico no hay neuronas dopaminérgicas y por tanto se deduce que, la dopamina que se encuentra a nivel periférico proviene del cerebro (80). Algunos autores (81,82) sugieren que la dopamina podría ser un regulador intrínseco de la función renal, ya que la zona glomerular de la corteza renal presenta receptores DA2 responsables de inhibir la liberación de aldosterona. La dopamina estimula los receptores dopaminérgicos y, también, los receptores  $\alpha$  y  $\beta$  de forma dosis-dependiente. Dosis altas de dopamina provocan vasoconstricción, actuando sobre los receptores  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  postsinápticos. Este efecto es relativamente débil ya que la acción de la dopamina sobre estos receptores es 35 veces (83) menos potente que la de la epinefrina y 50 menos que la de la NE. El estímulo de los receptores  $\beta$  aumenta el inotropismo y el cronotropismo incrementando el gasto cardíaco.

- **Receptores DA1:** se encuentran a nivel postsináptico en el músculo liso de los vasos mesentéricos y renales, y en otros sistemas arteriales como el coronario, cerebral y cutáneo. Su estimulación produce vasodilatación y aumento del flujo

sanguíneo. El estímulo concomitante de los DA2 presinápticos (inhibidores de la liberación de NE) también colabora en la vasodilatación. En el esófago, el estómago y en el intestino delgado generan aumento de la secreción y disminución de la motilidad gastrointestinal.

- **Receptores DA2:** localizados a nivel pre y postsináptico. Los presinápticos tienen un efecto parecido a los  $\alpha_2$ , con inhibición de la liberación de norepinefrina y un efecto vasodilatador. Los postsinápticos, aunque no se han identificado totalmente, parecen tener un efecto vasoconstrictor. Parece ser que tendrían un efecto contrario al de los DA1 postsinápticos vasculares renales (40,79).

### **Regulación de los receptores adrenérgicos**

Ambos sistemas producen una regulación dinámica de estos receptores, estando condicionados por el número de los mismos y la sensibilidad de estos a las catecolaminas.

Respecto al número de receptores, se pueden dar dos situaciones:

- "regulación al alza" o "upregulation".
- "regulación a la baja" o "downregulation".

Generalmente el número de receptores es inversamente proporcional a la concentración ambiental de catecolaminas. De esta manera, una marcada exposición a los agonistas provoca una disminución en el número de receptores y, como consecuencia, una menor respuesta fisiológica a las catecolaminas.

En el SNAP, el principal neurotransmisor es la Ach. La Ach actúa sobre los receptores colinérgicos situados en ganglios del sistema nervioso simpático y en la unión neuromuscular estriada. Estos receptores son conocidos como receptores muscarínicos y receptores nicotínicos, según su afinidad selectiva para la muscarina o la nicotina. Los receptores muscarínicos están localizados en las neuronas postganglionares del sistema nervioso parasimpático del corazón y del músculo liso de todo el organismo y, su activación genera disminución de la FR, disminución del inotropismo, miosis, broncoconstricción, salivación, hipermotilidad gastrointestinal y aumento de la secreción de ácido gástrico.

Existen cinco tipos de receptores muscarínicos (M1 a M5), los principales son (83):

- Receptores M1: localizados fundamentalmente en el sistema nervioso. Median efectos excitatorios.
- Receptores M2: activados por la Ach y localizados principalmente en el miocardio, donde pueden producir bradicardia, y en neuronas presinápticas, donde son responsables del “feed-back” negativo.
- Receptores M3: están localizados en las glándulas secretoras y en el músculo liso y son los responsables de todos los demás efectos que produce la estimulación parasimpática.
- Receptores M4: localizados principalmente en axones de neuronas que parten del cerebro para inervar células diana a lo largo de la corteza cerebral y el hipocampo. Aunque se sabe que se activan al unirse a la acetilcolina, sus funciones no están aún bien definidas del todo.
- Receptores M5: situados principalmente en el SNC (sustancia negra y núcleo accumbens), aunque se han encontrado bajas densidades de este subtipo en tejidos periférico. Los estudios demuestran un posible papel modulador en la liberación de dopamina en cerebro medio.

También se localizan receptores muscarínicos en la membrana presináptica de terminaciones nerviosas simpáticas del miocardio, coronarias y vasos periféricos, que se conocen como receptores muscarínicos adrenérgicos por su localización, pero que son estimulados por la Ach e inhiben la liberación de NE. En estas mismas zonas encontramos plexos del sistema nervioso autónomo, donde las terminaciones parasimpáticas y simpáticas se relacionan estrechamente, ocasionando que la Ach liberada por el SNAP, pueda inhibir también la liberación de NE.

En las uniones sinápticas de las neuronas pre y postganglionares, tanto del sistema simpático como del sistema parasimpático, se localizan receptores nicotínicos que producen efectos excitatorios en ambos sistemas, pero el efecto final es principalmente simpático, con aumento de la presión arterial y de la FC debido a la liberación de E y NE de la médula adrenal. Los receptores de la unión neuromuscular estriada son también nicotínicos, pero de un tipo diferente a los autonómicos.

### **Importancia de las glándulas Adrenales.**

Las glándulas adrenales se sitúan en el caballo en el retroperitoneo, por encima o mediales a los polos craneales renales. La glándula adrenal derecha se sitúa entre 1 y 4 centímetros, más craneal que la izquierda. La glándula adrenal derecha tiene forma de coma en los animales adultos y la izquierda tiene forma de lengua. Se encuentran rodeadas de una cápsula de tejido conectivo y en su interior se distingue (84):

- **Corteza:** constituye el 80-90% de la glándula. Encargada de la producción de aldosterona, cortisol y andrógenos. Se encuentra regulada por la hormona adrenocorticotropa (ACTH) (85,86).
- **Médula:** constituye el 10-20% de la glándula. Es la responsable de la liberación de NE y E tras la estimulación a través de los nervios simpáticos. Aproximadamente el 80% de la secreción es de epinefrina y el 20% restante de norepinefrina.

La activación simpática de la médula adrenal tiene como consecuencia la liberación masiva de norepinefrina y epinefrina hacia el torrente sanguíneo, actuando sobre todos los órganos (83).

Sus efectos en el organismo son los mismos que los producidos por el estímulo simpático directo, exceptuando que, en el caso de estas hormonas circulantes, su efecto va a ser mucho más prolongado (5-10 minutos). La norepinefrina y la epinefrina de la médula adrenal son liberadas al mismo tiempo en que los diferentes sistemas reciben el estímulo de las terminaciones nerviosas simpáticas, de manera que, los diferentes órganos reciben un estímulo casi simultáneo, directo por el estímulo simpático y a través de las hormonas circulantes. Esta dualidad de la estimulación asegura un correcto funcionamiento del organismo, ambos sistemas se complementan y en caso de fallo de uno de ellos puede verse sustituido por el otro (87).

Una cualidad importante de las hormonas adrenales, es su capacidad para estimular estructuras que no tienen inervación autonómica directa, de tal forma que pueden aumentar la actividad de todas las células del organismo.

### **Funciones generales del SNA.**

El SNA inerva el músculo liso, el músculo cardíaco y las células glandulares, y provoca dos acciones efectoras: excitación e inhibición. En general, cuando un órgano está inervado por fibras simpáticas y parasimpáticas, los efectos se contraponen, esto es, si el simpático excita, el parasimpático, inhibe. Sin embargo, la inervación simpática por sí sola puede aportar inervación recíproca mediante terminaciones nerviosas de receptores  $\alpha$  y de receptores  $\beta$ . El resultado neto depende del número de cada uno de los receptores.

A continuación se describen las funciones más importantes del SNA (88,89):

- **Musculatura del iris:** el reflejo fotopupilar está gobernado por el sistema nervioso autónomo. La actividad parasimpática causa contracción pupilar y la actividad simpática causa dilatación pupilar.
- **Músculo ciliar:** el enfoque del cristalino está controlado, casi en su totalidad, por el SNAP que provoca la contracción del músculo ciliar y, por lo tanto, la acomodación del cristalino para la visión próxima.
- **Glándulas del organismo:** las glándulas nasales, lagrimales, salivales y muchas glándulas gastrointestinales son estimuladas por el sistema nervioso parasimpático. La estimulación simpática tiene un efecto directo sobre las células glandulares haciendo que formen una secreción concentrada. También produce vasoconstricción de los vasos sanguíneos que irrigan las glándulas y disminuye sus tasas de secreción. En el caso de las glándulas lagrimales la estimulación de fibras parasimpáticas produce vasodilatación y secreción de las células glandulares. La estimulación de fibras simpáticas produce vasoconstricción.  
Respecto a las glándulas salivales la estimulación parasimpática produce vasodilatación y genera el aumento del volumen de saliva. La estimulación simpática produce vasoconstricción y un aumento de los componentes orgánicos de la saliva.

- Corazón: los nervios parasimpáticos se originan en el núcleo motor dorsal del nervio vago y siguen hacia el plexo cardíaco, innervando posteriormente los músculos de las aurículas, los vasos, los nodos sinoauricular y auriculoventricular y al tejido de conducción. Los nervios simpáticos se originan en los primeros segmentos torácicos de la médula espinal y se dirigen a los ganglios estrellados. Después, las fibras postganglionares llegan al corazón en el plexo cardíaco para innervar el nodo sinoauricular, las paredes vasculares y los músculos auriculares y ventriculares. La estimulación simpática excita las células nodales y aumenta la eficacia del corazón provocando un aumento de la FC, y la estimulación parasimpática inhibe las mismas células reduciendo la FC (76).
- Vasos sanguíneos sistémicos: el músculo liso de la mayoría de los vasos sanguíneos está controlado, únicamente, por la innervación simpática (a excepción de los vasos de órganos genitales que reciben innervación también parasimpática) (90). El aumento de la estimulación simpática produce una vasoconstricción y la disminución del mismo, una vasodilatación.
- Presión arterial: la presión arterial depende de la propulsión de la sangre por el corazón y de la resistencia del flujo de sangre de las paredes de los vasos sanguíneos. La estimulación simpática aumenta tanto la FC y la resistencia al flujo, produciendo un aumento de la presión arterial. Contrariamente, la estimulación parasimpática disminuye la FC pero, prácticamente, carece de efecto sobre la resistencia periférica. Sin embargo, el efecto general es una caída en la presión arterial.
- Sistema respiratorio: el SNA inerva el músculo liso de las vías aéreas, especialmente tráquea, bronquios y bronquiolos, el músculo liso de las arterias y venas pulmonares y las células caliciformes del epitelio bronquial. La actividad parasimpática genera broncoconstricción y estimulación de la secreción mucosa bronquial. La activación simpática genera broncodilatación al relajar la musculatura lisa de las vías aéreas, e inhibición de las células bronquiales y bronquiolares.

- Sistema digestivo: respecto al esófago, el SNA inerva sólo el músculo liso, no inerva el músculo estriado. La estimulación del parasimpático produce peristalsis y contracción del músculo liso, y la estimulación del simpático conlleva la relajación del músculo liso. En el caso del estómago e intestinos la estimulación parasimpática contrae la musculatura lisa del estómago, produce aumento de la secreción gastrointestinal y relajación de los esfínteres. La estimulación simpática produce constricción de los vasos sanguíneos e inhibición de las secreciones del estómago y conducto intestinal, inhibición de la musculatura lisa y contracción de los esfínteres. En el hígado la activación parasimpática produce relajación del músculo liso del esfínter del conducto biliar y la estimulación simpática provoca glucógenolisis. Respecto a la vejiga la estimulación parasimpática induce la contracción del músculo detrusor de la vejiga y relajación del esfínter, mientras que la estimulación simpática produce relajación del músculo y la contracción del esfínter.
- Órganos genitales: la activación parasimpática produce vasodilatación y erección del pene y clítoris. Los impulsos simpáticos son responsables de la eyaculación.

<b>Órgano efector</b>	<b>Respuesta Adrenérgica y receptor</b>	<b>Respuesta colinérgica</b>
<b>Corazón</b>		
<b>Cronotropismo</b>	Estimulación $\beta 1$	Disminuye
<b>Inotropismo</b>	Estimulación $\beta 1$	Disminuye
<b>Vasos sanguíneos</b>		
<b>Arterias</b>	Vasoconstricción $\alpha 1$	-
<b>Músc. Esquelético</b>	Vasodilatación $\beta 2$	-
<b>Venas</b>	Vasoconstricción $\alpha 2$	-
<b>Bronquios</b>	Broncodilatación $\beta 2$	Broncoconstricción
<b>Tracto gastrointestinal</b>		
<b>Motilidad</b>	Aumento $\alpha 1$ $\alpha 2$ $\beta 2$	Disminuye
<b>Esfínteres</b>	Relajación $\alpha 1$	Contracción
<b>Secreción</b>	Estimulación $\alpha 2$	Inhibición
<b>Ojo</b>		
<b>Músculo radial iris</b>	Contracción $\alpha 1$	-
<b>Músculo circular iris</b>	-	Contracción
<b>Músculo ciliar</b>	Relajación $\beta$	Contracción
<b>Riñón</b>	Contracción $\beta 1$	-
<b>Vejiga</b>		
<b>Detrusor</b>	Relajación $\beta 2$	Contracción
<b>Esfínter</b>	Contracción $\alpha 1$	Relajación
<b>Liberación insulina pancreática</b>	Disminuye $\alpha 2$	-
<b>Músculo liso, folículo piloso</b>	Contracción $\alpha 1$	-
<b>Glándulas salivares</b>	Secreción acuosa $\alpha 1$ $\beta 2$	Secreción amilasa
<b>Glándulas sudoríparas</b>	Secreción $\alpha 1$	-

Esquema 3.- Efectos de la estimulación simpática y parasimpática en los órganos efectores.

## **c.2. Fisiología del estrés**

### **a.- Concepto de estrés:**

El estrés es definido clásicamente como: un estímulo puntual, agresivo o no, percibido como amenazante para la homeostasis del organismo que genera una respuesta para restablecer el estado de equilibrio y adaptarse al estímulo agresor. Selye habla de reacción de alarma (91). El estrés genera un conjunto de reacciones que implican respuestas fisiológicas (neuronales, metabólicas y neuroendocrinas) y conductuales que permiten al organismo responder al estresor de la manera más adaptada posible.

Las respuestas al estrés son un reflejo de la activación de circuitos específicos constituidos genéticamente en cada individuo y modulados por el ambiente (92). Como previsión al futuro para reconocer de nuevo estos hechos estresantes, se producen cambios en el organismo que afectan a las funciones cognitivas (memoria).

La respuesta efectora ante el estrés afecta la parte motora y la endocrina. La primera hace referencia al efecto en la unidad muscular, debido a la función predictora del cerebro, y la segunda es el efecto en el eje Hipotalámico- Hipofisario-Adrenal (HHA) que, por medio del hipotálamo, se encarga de la respuesta neurohormonal, con incremento de la producción y liberación de glucocorticoide (93).

### **Fases del análisis del estresor:**

1. Percepción del hecho estresante y filtro de las informaciones sensoriales por el tálamo.
2. Programación de la reacción activando el córtex prefrontal (implicado en la toma de decisión, la atención, la memoria a corto plazo) y el sistema límbico por un análisis comparativo entre la nueva situación y los "recuerdos". Respuesta basada en experiencias previas.

3. Activación de la respuesta del organismo, gracias a la memoria emocional de la amígdala, y el hipocampo. Entra en juego el complejo hipotálamo-hipofisario, así como la formación reticular y el locus coeruleus.

### **Síndrome general de adaptación al estrés (GAS) (94):**

1. **Fase de alerta.** Ante un hecho estresante, el hipotálamo estimula al Sistema Nervioso Autónomo, concretamente a las glándulas adrenales: la porción medular para secretar epinefrina y la zona cortical glucocorticoides, cuyo objetivo es suministrar la energía en caso de lucha o huida.

El organismo responde de inmediato con una excitación hipotalámica específica de sus núcleos paraventriculares del área anterior, que están conectados por vía axónica por un lado con el locus coeruleus y con el núcleo mesencefálico, que posee el 50% de las neuronas simpáticas productoras de norepinefrina, lo que determina que al excitarse incrementa la actividad de la formación reticular, y por otro lado se relaciona con las astas laterales de la médula espinal, donde se origina el SNA, que al ser excitado aumenta la síntesis y secreción de norepinefrina por sus terminaciones periféricas al tiempo que estimula la síntesis y secreción de catecolaminas (principalmente epinefrina) por la médula adrenal, de manera que se produce rápidamente un incremento en la respuesta general simpática.

En resumen en esta fase podemos decir que ante un estímulo estresante, el organismo responde primero con una activación del SNAS, en conjunto con la médula adrenal, para el aumento de los niveles de epinefrina y norepinefrina en los líquidos corporales, en general, y en la sangre en particular que, genera un aumento de la presión arterial y del riego sanguíneo en los músculos activos y una disminución del flujo sanguíneo en otros órganos. A nivel fisiológico aumenta la concentración de glucosa en sangre (hiperglicemia), activa el metabolismo celular en todo el organismo y aumenta la glucólisis muscular.

2. **Fase de defensa o resistencia.** Se activa solamente si el agente estresante se mantiene un tiempo. La porción fasciculada de las glándulas adrenales comienza a secretar cortisol. Su función principal es mantener constante el nivel de glucosa sanguínea para nutrir los músculos, el corazón y el cerebro. Por un lado, la epinefrina proporciona la energía de urgencia, mientras el cortisol asegura la renovación de las reservas. En la fase de defensa o resistencia el organismo debe mantenerse.
3. **Fase de agotamiento.** Se da cuando la situación persiste y se agotan las reservas energéticas del organismo y se agota la capacidad de respuesta adrenal. Se produce una alteración hormonal crónica (con consecuencias orgánicas y psíquicas). Si esta situación se mantiene en el tiempo, produce agotamiento del organismo, las hormonas secretadas se acumulan en el torrente sanguíneo produciendo un efecto perjudicial sobre la salud.

La respuesta ante el estrés es necesaria para asegurar la supervivencia del organismo en condiciones desfavorables y, cabe decir que, no todos los estados de estrés son necesariamente nocivos. El estrés leve y controlable favorece el desarrollo intelectual y emocional del animal, recibe el nombre de eustrés. Pero un alto grado de estrés que se mantenga en el tiempo, que se presente como un hecho de amenaza no controlable genera respuestas adaptativas deficientes o distrés que sí tienen un efecto dañino sobre la salud (95).

#### **b.- Rutas de estrés:**

La interacción funcional del eje hipotalámico-hipofisario-glándulas adrenales-sistema simpático controla, mediante la producción de las hormonas glucocorticoides y catecolaminas la respuesta de adaptación ante el GAS.

- Eje Hipotalámico-Hipofisario-Adrenal:

En condiciones normales, el funcionamiento del eje HHA está regulado por el ritmo circadiano diurno (79) de esteroidogénesis y por mecanismos de retroalimentación negativa por glucocorticoides. En el ritmo diurno hay dos picos: uno en horas de la mañana y otro en la tarde y depende de circuitos neuronales sensibles a cambios en la luz.

El hipotálamo se constituye en el centro neuroendocrino básico de la respuesta anti estresante del organismo animal. Sus neuronas establecen múltiples conexiones entre sí, al tiempo que se relacionan con otras estructuras del sistema nervioso central, tales como la corteza cerebral, el sistema límbico, la formación reticular y la médula

espinal, mediante sistemas aferentes y eferentes neuronales extrahipotalámicos, así como con el sistema nervioso vegetativo (simpático y parasimpático).

La corteza sensorial del cerebro es informada de los estímulos estresantes captados por los sistemas sensoriales. Esta información es procesada en diferentes regiones del cerebro antes de comenzar con una respuesta.

Las zonas que procesan esta información se encuentran en la corteza cingulada y prefrontal y se encargan de activar o inhibir las neuronas parvocelulares del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN).

La activación de estas neuronas produce la secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) desde el hipotálamo hacia el plexo venoso de la eminencia media. Cuando la CRH alcanza la adenohipófisis o pituitaria, estimula la regulación de proopiomelanocortina (POMC) que es la precursora de la hormona adrenocorticotropa y de  $\beta$ endorfinas (79,84).

Las  $\beta$ endorfinas tienen un efecto opiáceo o analgésico local, sobre la corteza cerebral que minimiza el dolor.

Las neuronas del PVN también son responsables de la liberación de arginina-vasopresina que estimula la liberación de ACTH (96).

La ACTH, a nivel de las células del lóbulo intermedio de la hipófisis, es precursora de la hormona estimuladora de melanocitos ( $\alpha$ MSH) que tiene una doble función: promueve la pigmentación de la piel e inhibe la respuesta inmunológica.

Cuando la ACTH alcanza las glándulas adrenales estimula la zona fasciculada y reticulada de la corteza adrenal, produciendo la síntesis de glucocorticoides (GC) y en menor medida de mineralocorticoides (MC), liberándolos al torrente sanguíneo. Estos GC controlan su propia secreción a través de la retroalimentación negativa del eje HHA, ya que inhiben la secreción de CRH y de ACTH. El objetivo de esta contrarregulación es mantener estables los niveles basales de GC y ACTH pasado el hecho estresante. Las alteraciones de algunas de estas estructuras modifican la fisiología de este circuito. Su efecto hipocampal aumenta en la secreción de estrés agudo o adaptativo (85,97).

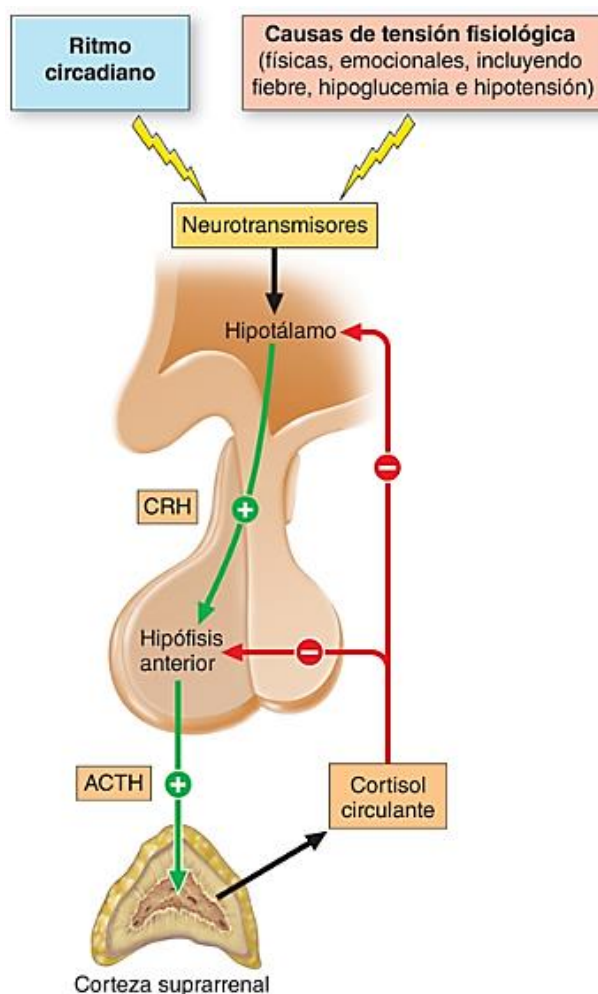


Imagen 9.- Representación del eje Hipotalámico-Hipofisario-Adrenal y de su regulación por retroalimentación negativa. Fuente: <https://es.slideshare.net/cuitla88/trastornos-suprarrenales-r2-mi>

### c.- Hormonas del estrés:

#### Glucocorticoides:

Los GC más abundantes y de mayor actividad, secretados por la zona fasciculada de la glándula adrenal son la corticosterona y el cortisol (98). La mayoría de las especies animales producen ambos tipos de GC, pero existen marcadas diferencias en sus proporciones relativas, siendo el cortisol la secreción principal en humanos, caballo, cerdo, mono, perro, gato, hámster, aves y la mayoría de los peces y la corticosterona en la mayoría de los roedores y la mayoría de los reptiles.

Los GC son secretados por las glándulas adrenales tras ser activadas por la ACTH y son de naturaleza esteroidea (95).

El ritmo circadiano, la edad y el estrés agudo o crónico, condiciona la densidad de los receptores de glucocorticoides en el cerebro (96,99).

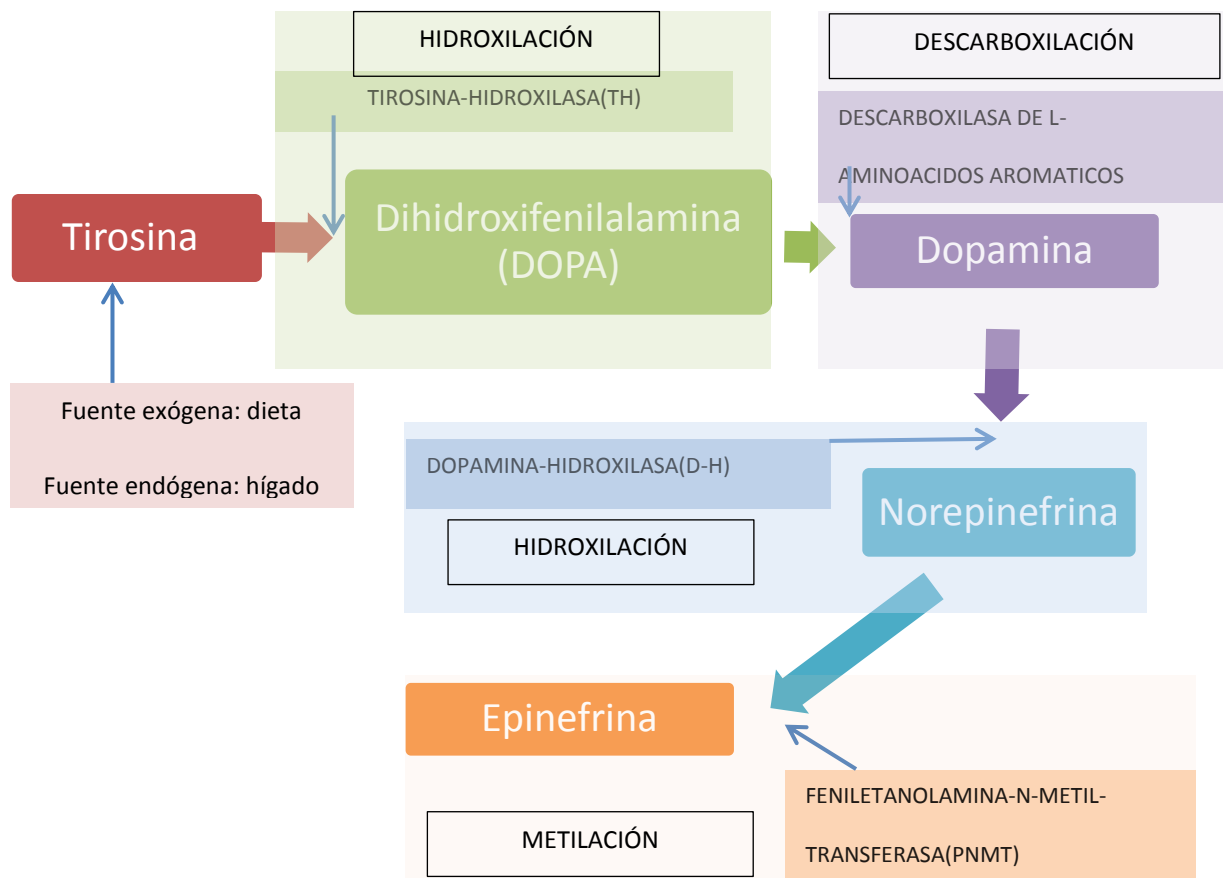
Para los corticoides existen dos tipos de receptores intracelulares (98):

- Tipo I (MR): Receptores de mineralocorticoides Son de alta afinidad ante niveles basales de MC.
- Tipo II (GR): Receptores de GC. Son de baja afinidad pero muy reactivos a cambios de concentración de los GC.

Ambos receptores se complementan modulando las respuestas del eje HHA, los MR regulan la actividad del eje de forma tónica, mientras que los GR aumentan su actividad en situaciones de estrés.

### **Catecolaminas:**

Las catecolaminas son un grupo de hormonas y/o neurotransmisores que tienen en su estructura el grupo catecol. Las más importantes son la epinefrina, la norepinefrina y la dopamina (84,96). Las catecolaminas son parte fundamental en los mecanismos integrativos, tanto neurales como endocrinos. Esta integración de Sistemas se debe a la unidad anatómica y fisiológica que forman el SNAS y la médula adrenal conocido como el sistema simpático-adrenal. Este sistema juega un papel fundamental, junto con el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (CRH-ACTH-Cortisol), en las respuestas al estrés (100,101).



Esquema 4.-Etapas de la biosíntesis de las catecolaminas

El estrés físico, activa las neuronas del tallo cerebral y el estrés psicológico las de las áreas del sistema límbico, las cuales a través de proyecciones axonales actúan sobre neuronas del PVN del hipotálamo que sintetizan CRH. Las neuronas hipofisotrópicas, en respuesta a un estímulo estresante, liberan la CRH a la circulación portal hipotálamo-hipofisaria que llega a la hipófisis anterior controlando la síntesis y liberación de ACTH (102). Los glucocorticoides secretados por la glándula adrenal ejercerán sus acciones sobre los tejidos periféricos, formando parte de la respuesta adaptativa al estrés. Pero además el hipotálamo se encargará de decodificar señales neuronales, originadas en otras regiones cerebrales, así como, señales hormonales provenientes de la periferia. Las neuronas hipotalámicas no sólo se encargan de secretar su producto hacia la sangre portal hipotálamo-hipofisaria, sino que también tienen proyecciones nerviosas hacia

otras zonas cerebrales o hacia núcleos situados en la médula espinal (como el núcleo del tracto solitario) y controlan el funcionamiento del SNA. Así obtenemos una respuesta que coordinada con la médula adrenal que secreta epinefrina por estimulación del SNA; esta hormona genera un estado de alerta en el organismo, permitiéndole responder al desafío. La acción combinada de las hormonas cortisol y epinefrina y el sistema simpático-adrenal, produce una serie de actividades vegetativas involucrando a varios sistemas (cardiovascular, digestivo, respiratorio, muscular, etc) y la activación de diversas vías metabólicas (de los hidratos de carbono y lípidos fundamentalmente) para aportar la necesidad de energía requeridas ante el estímulo de estrés (90).

### **Serotonina:**

La serotonina (5-HT) es una hormona y/o neurotransmisor sintetizada por las neuronas de los núcleos del rafe del tronco cerebral localizado en el SNC, presentando mayor densidad en los ganglios basales y en las estructuras límbicas (103).

La serotonina regula una gran variedad de funciones sensoriales, motoras y las funciones de comportamiento en el SNC de mamíferos (104). La serotonina y sus receptores están presentes tanto en el SNC y SNP, como en numerosos tejidos no neuronales de órganos como el intestino, el sistema cardiovascular y las células sanguíneas (105).

Existe una relación entre el eje HHA y el sistema serotoninérgico. Anatómicamente existen conexiones entre las fibras serotoninérgicas y ciertas estructuras cerebrales que participan en el control de la respuesta al estrés como el PVN del hipotálamo o el hipocampo.

El sistema serotoninérgico está directamente implicado en los efectos del estrés en el hipocampo. El estrés aumenta los niveles de 5-HT en esta región y la administración exógena de 5-HT, inhibe el proceso de potenciación a largo plazo, necesario para la formación de la memoria (106), lo que es un indicativo de una acción supresora de la plasticidad sináptica. La 5-HT y los corticoides interactúan a nivel de sus receptores, de hecho la administración de 5-HT regula al alza la expresión de los receptores de GR (107).

**d.- Consecuencias fisiológicas del estrés:**

Como hemos explicado anteriormente, el estrés genera en el organismo una activación excesiva de algunos sistemas y un aumento del gasto energético. Cuando la situación de estrés se mantiene en el tiempo, induce a un estado de agotamiento de los recursos donde las alteraciones más destacables son (108):

- Equilibrio hidro-mineral.

El aumento del cortisol inhibe la secreción de la hormona antidiurética (ADH) favoreciendo el flujo plasmático renal, la filtración glomerular y la pérdida de agua por aumento de la frecuencia de micción. Secundariamente, la acción de los mineralocorticoides aumenta la reabsorción renal de Sodio (Na<sup>+</sup>) (hipersodemia) y la pérdida de Potasio (K<sup>+</sup>) (hipopotasemia) (109).

- Alteraciones del desarrollo.

Disminución de peso y retraso en el crecimiento.

Genera un incremento de los índices de conversión, debido a la acción catabólica que producen las hormonas del estrés sobre la matriz ósea y sobre el cartílago de crecimiento. La producción de glucocorticoides ocasiona desórdenes en el metabolismo óseo que se manifiestan como osteopenia, pudiendo producir fracturas espontáneas a largo plazo. A nivel intestinal disminuye la captación y absorción de calcio por la acción anti-vitamina D de los efectos del estrés.

- Alteraciones de la reproducción y la lactancia.

Se produce un desequilibrio en las hormonas sexuales, retrasándose los celos. Las hembras gestantes tienen mayores índices de abortos y en los machos se ve alterada la producción de espermatozoides (110).

En hembras en periodo de lactancia, los niveles de catecolaminas en sangre inhiben la secreción de prolactina por la hipófisis anterior, lo que conlleva una disminución en la producción de leche.

- Alteraciones del sistema inmune (111,112).

En el estado de estrés la combinación glucocorticoides-catecolaminas produce un aumento de la sensibilidad frente a agentes infecciosos, ya que hay una disminución de las inmunoglobulinas, linfopenia, neutrofilia, eosinopenia, disminución de los órganos

linfoides e hipertrofia del Timo. El efecto inmunodepresor se refuerza, además, por el incremento de los niveles de serotonina y dopamina y también se inhibe el sistema mononuclear fagocitario.

- Alteraciones del aparato digestivo (112).

Fundamentalmente se observan diarreas y úlceras gastroesofágicas, por inflamación del tracto gastrointestinal.

- Sistema cardiovascular (113).

El estrés está relacionado con un aumento del riesgo de sufrir patologías del sistema cardiovascular, como angina de pecho o infarto de miocardio, mediante la activación del SNAS y la hipertensión asociada por los mecanismos anteriormente descritos.

- SNC (114).

El estrés afecta al SNC, donde una exposición aguda desencadena una respuesta inflamatoria, de manera que también está asociado con múltiples patologías del SNC con un componente inflamatorio en su fisiopatología (115).

#### **d.- Medicina Tradicional China: Acupuntura**

La Medicina Tradicional China (MTCh) se considera una de las más antiguas formas de medicina oriental. Tiene la existencia más longeva practicada en el mundo, con más de 3000 años de historia. Parte de una idea fundamental: el cuerpo humano y el de los animales es un continuum y no puede haber separación entre mente y cuerpo. Ambos son la misma cosa, por eso la Medicina China se considera una disciplina holística. Se basa en el concepto de chi, que es la energía vital, que según esta corriente, recorre el cuerpo de todos los seres.

El chi regula el equilibrio espiritual, emocional, mental y físico y le influyen las fuerzas opuestas del yin, es decir, la energía negativa y el yang, que es la energía positiva. Según la MTCh, las enfermedades ocurren cuando se desequilibra el flujo del chi y se producen alteraciones entre el yin y el yang.

La MTCh ayuda a restaurar el cuerpo equilibrando de nuevo el chi, se trabaja a un nivel energético, no sólo físico, para repercutir en mente, cuerpo y espíritu del animal.

La MTCh toma como base teórica el yin y el yang, dos principios opuestos en la naturaleza, el anterior femenino y negativo, y el posterior masculino y positivo, y los cinco elementos, metal, madera, agua, fuego y tierra, considerados por los antiguos (116) como los que componen el universo físico y, después, usados en la MTCh para explicar varios fenómenos psicológicos y patológicos.

La MTCh es una forma fundamentalmente taoísta de entender la medicina y el cuerpo.

El Tao es el origen del Universo, que se sostiene en un equilibrio inestable, fruto de las dos fuerzas primordiales: el Yin (la tierra, el frío, lo femenino) y el Yang (el cielo, el calor, lo masculino), capaces de modificar a los cinco elementos de que está hecho el universo: agua, tierra, fuego, madera y metal. Esta concepción cosmológica determina un modelo de enfermedad basado en la ruptura del equilibrio, y del tratamiento de la misma en una recuperación de ese equilibrio fundamental.

La MTCh considera al cuerpo como un todo, y atribuye la enfermedad al desequilibrio entre los diferentes elementos del mismo, por lo que su tratamiento, más que destinado a la curación de un síntoma concreto, se enfoca al restablecimiento del equilibrio corporal, enfatizando la necesidad de llevar una vida sana, la nutrición, la relajación, y los ejercicios.

## **i.- Antecedentes históricos**

La acupuntura es un método terapéutico incluido dentro de la Medicina Tradicional China. La más lejana mención escrita que se conoce de la acupuntura, está fechada en el año 580 a.C. Se trata de “El libro de las Primaveras y los Otoños”, historia de la china del siglo VIII al siglo V a.C.

El primer registro histórico de aplicación en animales es el “Li-Jio Canon de Rituales” y data del siglo XI a.C. Este texto, describe un ritual en el que, por medio de agujas, se estimulaba a los caballos antes de entrar en batalla. Existe otro documento histórico datado en 659-621 a.C., el Bai-le Zhenjing: Sun Yang, alias Bai-le, aristócrata y veterinario, una de las figuras relevantes en la historia de la veterinaria en China que vivió en el siglo VII a.C. y cobró fama por su habilidad para tratar caballos mediante acupuntura: describió 77 zonas de la superficie corporal de los équidos para utilizar esta técnica (117). Además, parece que estudió la anatomía, fisiología y patología de los equinos, y defendió el estudio directo de los animales como medio para mejorar los conocimientos veterinarios. Escribió el primer texto de acupuntura veterinaria en el que señala la estimulación de los caballos mediante diversos objetos, entre los que se encontraban lancetas semejantes a las agujas empleadas para hacer punto. Es considerado el padre de la Acupuntura Veterinaria en China (118).

En el “Ko Hung o Manual de prescripciones para Emergencias”, y en la obra “Principios de Tecnología para la Agricultura” escrito por Jia Xi-xie (533-544 d.C.), libros de medicina humana y animal, se hace referencia a la Acupuntura aplicada en animales. Durante la dinastía Sui (581-618 d. C.) destaca Ma Jing Kong-xiue Tu con su “Atlas de Puntos de acupuntura para Equinos” (119).

La última gran publicación de Acupuntura aplicada en animales la realizan los hermanos Yu Pen Xuang y Yu Peng Heng en 1608, se tituló: “Antología del Tratamiento del Caballo, un tratado sobre Acupuntura y medicina herbolaria” (120).

La primera persona registrada en ejercer la Acupuntura en la Medicina Veterinaria y al que también se le considera como el progenitor de la Medicina Veterinaria en China, es Shun-Yong que data del 480 a.C. (117).

FECHA	NOMBRE DEL TEXTO	DESCRIPCION
<b>siglo XI a.C</b> <b>Periodo Shang</b>	Li-Jio Canon de Rituales	Estimulación del caballo con agujas antes de entrar en batalla.
<b>659-621 a.C.</b> <b>Periodo Chunqiu</b>	Bai-le Zhenjing	Primer texto de acupuntura veterinaria.
<b>200-220 d.C</b> <b>Periodo Qin y Han</b>	Lie Xian Zhuan	Descripción de terapias en animales.
<b>S. XI d.C.</b>	Qi-min Yao Shu	Listado de tratamientos de acupuntura veterinaria.
<b>533-544 d.C.</b>	Ko Hung o Manual de prescripciones para Emergencias	Libros de medicina humana y animal donde se hace referencia a la Acupuntura aplicada en animales.
<b>581-618 d.C.</b> <b>Periodo Sui</b>	Ma Jing Kong-xiue Tu	Atlas de Puntos de acupuntura para Equinos.
<b>960-1279 d.C.</b> <b>Periodo Song</b>	Fan-mu Cuan-yan Fang	Incluye un anexo de acupuntura en animales.
<b>1608 d. C.</b> <b>Periodo Ming</b>	Yuan-Heng Liao- ma Ji	Tratado sobre Acupuntura y medicina herbolaria para caballos.
<b>1644-1840 d.C.</b> <b>Periodo Qing</b>	Yang Gen Ji	Acupuntura y moxibustión en ganado.
	Niu-yi Jin Han	Listado de 35 puntos de acupuntura en ganado bovino.
	Da Wu Jing	Listado de 36 puntos de acupuntura para ganado.
<b>1863 d.C.</b>	Le medicine chez les Chinoises	Escrito por Pierre Dabry. Incluye una sección de acupuntura en animales.
<b>1873 d.C.</b> <b>Periodo Qing</b>	Huo- Shou Ci-Zhou	Incluye un capítulo de acupuntura aplicada en animales.
<b>1955 d.C.</b>	Hsing Yue Ma Ching	Moderno tratado de tratamientos veterinarios en caballos y ganado.

Esquema 5.-Referencias históricas registradas por escrito de la acupuntura aplicada en animales (6)

Posteriormente al año 1955 d. C. comenzó un movimiento global de descubrimiento de la Medicina Tradicional China dentro de su país y de expansión por la sociedad científica occidental. Se organizaron múltiples eventos científicos para dar a conocer las bases de la MTCh y sus mecanismos de acción, se expusieron casos de aplicación de la acupuntura en caballos y monos. En 1981 se realizó en Beijing la Primera Conferencia Nacional de acupuntura y moxibustión veterinaria. Seis años más tarde, en 1987, se realizó el Primer Congreso Internacional de Acupuntura veterinaria en Beijing. El interés por la Medicina Tradicional China y por la Acupuntura no sólo se ha mantenido durante los años, sino que ha despertado interés en los círculos de la Medicina moderna, a la luz de los resultados obtenidos en diferentes patologías (121,122).

A pesar de esto, la Medicina Tradicional china y la Acupuntura no están reguladas en España.

No existe regulación específica para la formación, el ejercicio ni práctica de la Medicina China y Acupuntura, pero sí quedó registrado, a través del Real Decreto 1591/2010, de 26 de noviembre, por el que se aprueba la Clasificación Nacional de Ocupaciones, donde el Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad publicó el primer documento de análisis de situación de las Terapias Naturales, un documento descriptivo sobre las Terapias Naturales que ha sido muy coparticipado y que puede servir de base para el abordaje de una posible regulación en el futuro (123).

Al no existir una regulación específica ni de la formación ni de la titulación de las personas que aplican las terapias naturales, en la práctica coexisten profesionales sanitarios y no sanitarios que las realizan.

Así que hablamos de Terapias Naturales Alternativas que carecen de formación oficial homologada aunque se impartan en Centros Universitarios.

La Acupuntura es la base de la Medicina Tradicional China, un modo milenario de tratar diversas patologías. Es una técnica reconocida por la Organización Mundial de la Salud en el tratamiento de determinadas patologías:

- Enfermedades respiratorias: bronquitis aguda, asma.
- Enfermedades gastrointestinales: gastritis, úlcera gástrica y duodenal, colitis, diarreas, estreñimiento.

- Enfermedades otorrinolaringológicas comunes: otitis, rinitis, resfriado, sinusitis, amigdalitis y dolores de piezas dentarias.
- Enfermedades neurológicas y musculoesqueléticas: neuralgia del trigémino, cefaleas, migrañas, disfunción de vejiga, hombro doloroso, codo de tenista, ciática, lumbalgias, artritis.
- Enfermedades oftalmológicas: conjuntivitis aguda, retinitis.
- Otros procesos de orden funcional: dolor menstrual o menopáusico, trastornos del embarazo, lesiones deportivas, estrés, depresión, síndrome de fatiga crónica.

Además, se trata de una técnica reconocida e incluida por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) desde 2010, en la Lista Representativa de Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad.

La acupuntura y otras modalidades médicas complementarias, que implican principios holísticos, desafían el paradigma biomédico dominante de reduccionismo mecánico y, por lo tanto, se consideran no convencionales o alternativas.

## **ii. - Bases de la acupuntura**

Acupuntura, la palabra procedente del latín:

Acus:        aguja.

Puntura:    punzada.

El concepto de salud en la Medicina Tradicional China se basa en el libre flujo de energía vital o Qi en el cuerpo, a través de canales denominados meridianos. Estos meridianos incluyen en su trayecto determinados puntos que los conectan con los órganos y las vísceras. Cuando este flujo de energía se ve alterado, por exceso o defecto, aparece la patología.

A través de la punción de las agujas en determinados puntos, se pretende normalizar el correcto flujo del Qi y con ello restaurar la salud. Se trata el interior desde el exterior.

La Medicina Tradicional China es una técnica controvertida por ofrecer un sustento filosófico y no científico a sus teorías y aplicaciones.

Hay pocos estudios realizados para intentar demostrar la existencia de los puntos de acupuntura y de los meridianos y, además, en los pocos que hay, se presentan resultados muy diferentes.

Mientras unos sostienen la teoría de que los puntos de acupuntura existen e, incluso, son zonas de alta conductividad eléctrica, o están íntimamente relacionados con los Trigger points, otros estudios, tras realizar una revisión científica mantienen que no hay evidencia de la existencia de los puntos de acupuntura, ni de los meridianos como entidades discretas, a pesar de esto, se sabe de la evidencia científica de la punción.

Lo que sí se ha demostrado en otros estudios, es la evidencia de la eficacia de la acupuntura en el tratamiento de diferentes patologías.

A pesar de todos estos datos, los estudios demuestran que la aplicación de esta técnica puede provocar cambios a diferentes niveles:

- Regionales: a través de la médula se produce una activación de un área más grande por los reflejos cutáneomuscular, viscerocutáneo y visceromuscular.
- General: a través del Sistema Nervioso Central, el sistema opioide y el mecanismo inhibitorio simpático central.

Se trata de una estimulación periférica que, a través de las vías nociceptivas, actúa en la estructura bulbar, mesencefálica y cortical provocando cambios en el SNC y SNP.

Los principios de la Medicina Tradicional China son profundos y derivados de la medicina tradicional aborígen.

La observación y comprensión de la naturaleza les llevó a comprender que, todo el Universo está interrelacionado de una manera dinámica, pero siempre manteniendo un equilibrio. Los seres vivos, como miembros de este sistema están sujetos a esas leyes y afectados por el entorno dinámico que les rodea (116).

Los principios de la MTCh están establecidos desde antes del año 700 a.C. e intentan explicar el funcionamiento de la Acupuntura (118).

El esquema del proceso natural seguido por la filosofía oriental que condicionó su manera de entender su medicina es el siguiente:



## 1.- Teoría del Yin-Yang, el principio Qi-Hua

Recibe el nombre de Tao la integración del individuo en su entorno, en el Universo. Éste tiene una organización cíclica y los seres vivos al formar parte del Sistema se ven envueltos en una secuencia de nacimiento, crecimiento y muerte, el día y la noche, lo positivo y lo negativo, lo femenino y lo masculino,...

Teóricamente hay un constante fluir entre dos polaridades llamadas Yin y Yang, dos fuerzas opuestas pero complementarias.

El Yin evoca la oscuridad, el interior, lo femenino, la retracción, el invierno,...

Mientras que el Yang se refiere a la luz, el exterior, lo masculino, la expansión, el verano,...

El símbolo que representa la presencia del Yin y del Yang sobre todas las cosas es el Taijitu, en el que se muestra la dualidad de todo lo existente en el Universo. La imagen del Diagrama de Taiji ha variado durante el paso de los siglos pero siempre, ha mostrado las Leyes que guían las características del Yin y del Yang (121).



Imagen 10.- Dualidad del Yin y del Yang. Fuente: [http://feng-shui.lovetoknow.com/Ying\\_Yang\\_Meaning](http://feng-shui.lovetoknow.com/Ying_Yang_Meaning). Fuente: <http://www.hdfondos.eu/imagen/542625/la-luz-del-sol-rocas-monta%C3%B1as-hielo-fondo-de-pantalla-de-la-naturaleza>

Puede ejemplificarse esta concepción a partir del significado de las palabras: literalmente, yang significa ‘la ladera luminosa (soleada) de la montaña’, y yin ‘la ladera oscura (sombria) de la montaña’; entiéndase la idea de montaña como símbolo de unidad. Así, aunque representan dos fuerzas aparentemente opuestas, forman parte de una única naturaleza.

*“...Vida y muerte son abstracciones del crecimiento,  
dificultad y facilidad son abstracciones del progreso,  
cerca y lejos son abstracciones de la posición,  
fuerza y debilidad son abstracciones del control,  
música y habla son abstracciones de la armonía,  
antes y después son abstracciones de la secuencia...”*

*Dào Dé Jīng*

Estas polaridades son opuestas pero dependen la una de la otra. Una no puede existir sin la otra y buscan siempre el equilibrio a través de unas leyes fundamentales:

1. **Ley de Oposición:** Yin-Yang pueden representar dos etapas opuestas de un ciclo o de estados de agregación. Esta oposición constituye la fuerza motriz de todos los cambios, desarrollo o decadencia de las cosas en la Naturaleza. Nada puede ser totalmente Yin o totalmente Yang, sino el resultado de un equilibrio dinámico de numerosas fuerzas opuestas

que le conferirán una cualidad Yin o Yang siempre relativa, nunca absoluta, y que contendrá en sí misma, el germen de su opuesto.

Ejemplo: oposición entre luz y oscuridad, frío y calor.

Se refiere a la capacidad de control que tiene el uno sobre el otro, de manera que se encuentran en un equilibrio relativo.

2. **Ley de Interdependencia:** las diversas fuerzas opuestas que describe la ley anterior son excluyentes mutuamente, pero, a la vez, dependientes entre sí. Yin y Yang son opuestos pero interdependientes, uno no puede existir sin el otro.

Ejemplo: no puede existir el día, si no existe la noche; no puede existir el frío sin el calor; la actividad sin el reposo; la energía sin la materia; etc.

3. **Ley de capacidad de subdivisión en Yin y Yang:** toda parte, Yin o Yang, puede a su vez subdividirse indefinidamente en Yin y Yang.

Ejemplo: algo puede estar iluminado o a oscuras, a su vez esa iluminación puede ser tenue o brillante, la oscuridad puede ser total o parcial.

4. **Ley del crecimiento-decrecimiento:** la oposición y la interdependencia entre Yin y Yang están en una mutación constante, con un equilibrio dinámico que se mantiene dentro de ciertos límites durante algún tiempo, a través de alguna de estas cuatro posibles formas cambiantes:

Crecimiento de Yang con el decrecimiento de Yin.

Crecimiento de Yin con el decrecimiento de Yang.

Decrecimiento de Yang con el crecimiento de Yin.

Decrecimiento de Yin con el crecimiento de Yang.

El predominio de uno, siempre conlleva el debilitamiento del opuesto.

5. **Ley de transformación:** en su proceso de desarrollo, y en condiciones extremas, el Yin puede transformarse en Yang y viceversa. Pero para que esta ley se cumpla el tiempo y la propia naturaleza del elemento en desarrollo deben hacerla factible.

6.- **Ley de integración:** como uno no puede existir sin el otro, no hay nada que sea totalmente Yin, ni nada que sea totalmente Yang. Dentro del Yin siempre hay Yang y viceversa.

En el Taijitu, lo esencial de la mutación lo expresa la sinusoide que separa al Yang Supremo del Yin Supremo. Una sinusoide en el interior de un círculo mostrando la mutación infinita, que determina el curso del universo.

Estas dos polaridades no pueden existir separadas, se requieren entre sí. Según esta teoría, el Universo estaba en un estado de caos primordial, sin fuerza, forma ni sustancia. Ese caos se transformó en la fuerza negativa (Yin) y en la fuerza positiva (Yang) y el orden surgió del desorden. Estas fuerzas se afectan de forma constante, por eso no hay nada definitivo en el Universo, todo es cambiante: la noche cambia en día, el verano trae al otoño,...esto es el principio del Qi-Hua o la mutación de energía (122).

Según Nei Jing Su Wen: “el universo es el estado de oscilación de las fuerzas Yin y Yang y de sus cambios”. La energía va fluctuando del Yin al Yang en la búsqueda del Estado de equilibrio, estas fluctuaciones de energía determinan los cambios que se dan en todos los ciclos del Universo (120):

- El ciclo día-noche
- Cambio de estación
- El desarrollo de la vida

En esta imagen podemos apreciar los cambios y el fluir de las horas, estaciones y la vida en función del Yin y del Yang.

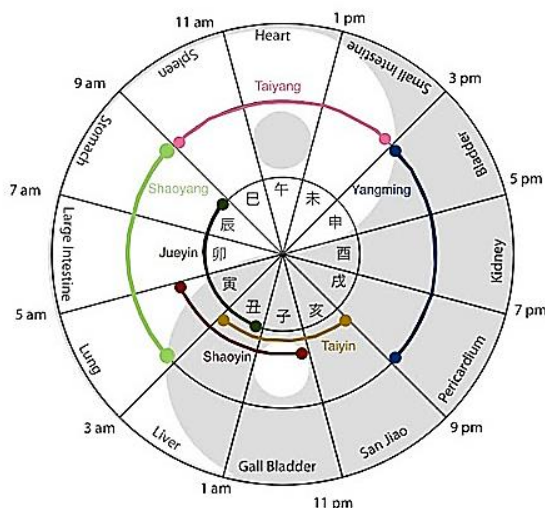


Imagen 11.-Horario de fluctuación del Yin y

el Yang.Fuente:

<http://www.escuelasانبao.cl/articulos-de-profesores/el-ciclo-horario-y-los-ritmos-naturales-de-nuestro-cuerpo/>

El ciclo creativo o ciclo Shen que, afecta tanto al Yin y al Yang, como a la creación de los cinco elementos, gira en el sentido horario e implica un movimiento de avance que afecta a las Leyes anteriormente mencionadas y a las que, posteriormente, describiremos respecto a la teoría de los Cinco Elementos (121).

Se puede observar que, en cada segmento horario hay algo (estación, fase del día, fase de la vida) que se encuentra en su pico funcional positivo, que se concentra en él la máxima circulación de energía. Por consiguiente, si tiene un pico funcional positivo, en el horario opuesto exhibirá un pico funcional negativo. Así, con dos semiciclos, uno positivo y otro negativo, se aproxima al comportamiento sinusoidal.

- Entre las 3 y las 6 horas:
  - Inicio del aumento de Yang.
  - Aunque hay oscuridad (Yin) comienza a amanecer (Yang).
  - Termina el invierno (Yin) y comienza la primavera (Yang).
  - Los días se alargan (aumento de Yang).
  - Juventud.
  - Cede la oscuridad de la noche, claridad y amanecer (Yang dentro del Yin).
- Entre las 6 y las 9 horas:
  - Equinoccio de primavera.
  - Yang máximo, explosión de floración y germinación.
  - Edad adulta.
  - Su opuesto también es máximo.
  - Luz radiante.
- Entre las 9 y las 12 horas:
  - Termina la primavera y comienza el verano.
  - Inicio del atardecer.
- Entre las 12 y las 15 horas:
  - Solsticio de verano.
  - Comienza disminuir el Yang.
  - Termina el verano.
  - Avanza el atardecer.

- Entre las 15 y las 18 horas:
  - Comienza el otoño (aumento de Yin).
  - Decrece el Yang.
  - Edad madura.
  - Atardecer, luz tenue, comienza la noche. Aumento del Yin dentro del Yang.
- Entre las 18 y las 21 horas:
  - Equinoccio de otoño.
  - Yin máximo.
  - Vejez.
  - Su opuesto también es máximo.
  - Anochecer y oscuridad.
- Entre las 21 y las 0 horas:
  - Termina el otoño y comienza el invierno.
  - Inicio del amanecer.
- Entre las 0 y las 3 horas:
  - Solsticio de invierno.
  - Comienza a disminuir el Yin.
  - Comienza a surgir el Yang para iniciar un nuevo ciclo.
  - Amanecer, aumento de la claridad.

Este dinamismo es el sustento filosófico de la MTCh.

**Esquema 6.-Correspondencias Yin-Yang.**

<b>YIN</b>	<b>YANG</b>
<b>Tierra</b>	Cielo
<b>Plano</b>	Circular
<b>Materia</b>	Energía
<b>Reposo</b>	Actividad
<b>Contracción</b>	Expansión
<b>Abajo</b>	Arriba
<b>Femenino</b>	Masculino
<b>Oscuridad</b>	Luz
<b>Vacío</b>	Plenitud
<b>Crónico</b>	Agudo
<b>Parte anteroinferior</b>	Parte posterosuperior

En un organismo sano se observa el equilibrio entre el Yin y el Yang a través de los mecanismos reguladores endógenos. Cuando se produce un desequilibrio entre ellos, aparece la enfermedad. En función de la sintomatología, la enfermedad, puede ser por crecimiento o decrecimiento en exceso de uno de ellos, como hemos visto en las Leyes por las que se rige este equilibrio.

La división total entre el Yin y el Yang significa la muerte.

La cosmogénesis según Huainanzi (124):

*Cuando Cielo y Tierra todavía no tenían forma.*

*Todo ascendía y volaba, sumergiéndose y profundizando.*

*Por eso fue llamado el Gran Inicio.*

*El Dao se originó en el Vacío Nebuloso.*

*El Vacío Nebuloso produjo Espacio-Tiempo;*

*El Espacio-Tiempo produjo el Qi primordial.*

*Un litoral dividió el Qi primordial.*

*Lo que era puro y claro se dispersó para formar el Cielo;*

*Lo que era pesado y turbio se solidificó para formar la Tierra.*

*Es fácil para el que es puro y sutil reunirse,*

*pero es difícil para lo pesado y turbio solidificarse.*

*Por eso el Cielo fue terminado primero y la Tierra fijada después.*

*Las esencias unidas de Cielo y Tierra produjeron Yin y Yang.*

*Las quintaesencias de Yin y Yang se convirtieron en las cuatro estaciones.*

*Las esencias esparcidas de las cuatro estaciones crearon todas las cosas.*

*El Qi caliente del Yang acumulado produce fuego y la quintaesencia del Qi de fuego se convierte en el sol;*

*El Qi frío acumulado del Yin produce agua y la quintaesencia del agua se convierte en la luna.*

*El sobrante de la quintaesencia del sol y la luna se convierte en las estrellas.*

*Al cielo pertenecen el sol, la luna, las estrellas y los planetas,*

*A la tierra pertenecen el agua que fluye, el polvo y la tierra.*

*El camino del Cielo uno lo llama el círculo.*

*El camino de la Tierra uno lo llama rectángulo.*

*El rectángulo gobierna lo que es oscuro, el círculo gobierna lo que es brillante.*

*Lo que es brillante emite Qi y por esa razón el fuego es el resplandor externo del sol.*

*Lo que es oscuro se traga el Qi y por eso el agua es la luminosidad interna de la luna.*

*Qi emitido crea y Qi retenido es transformado.*

*Por eso Yang da y Yin es transformado.*

## 2.- Teoría del Qi

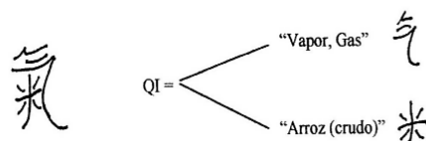


Imagen 12.-Ideograma chino del Qi. Fuente: <http://izanzu.com/albistea/zer-da-energia-bitala>

El ideograma chino del Qi está formado por la palabra vapor de arroz que, era la forma más etérea o inmaterial conocida en la época y por la palabra arroz crudo, la palabra más material existente que, además, era la base de la alimentación. Con esto querían decir que el Qi es materia convirtiéndose en energía y energía convirtiéndose en materia, un estado de transición entre estos dos y al mismo tiempo los dos estados en sí mismos.

El Qi o el Chi es el "flujo vital de energía". Es un pulso que está presente en todas las formas de vida en la naturaleza y que se produce de la interrelación del Yin y el Yang (125).

En la MTCh, esta sustancia vital hace que todo esté en constante movimiento, no es algo estático. El Qi estimula al Tao. El Tao es la fuente de todos los seres, el principio absoluto y sin forma que los conforma, les da nacimiento y les otorga una forma.

*“El Tao nació del vacío y el vacío formó el universo. El universo engendró el universo. El universo engendró el Qi. Lo ligero y transparente ascendió para formar el cielo, lo pesado y turbio se consolidó y formó la tierra”*

*Texto daoista, HuaiNan NanZiZi, 122 a. C.*

*“Cada nacimiento es una condensación y cada muerte una disolución. El nacimiento no es una ganancia, la muerte no es pérdida(..);,cuando el Qi se condensa, se transforma en ser vivo, cuando se dispersa, se vuelve substrato para las transformaciones”*

*Según el daoista Zhang Za*

Históricamente, el término ‘Qi’ aparece por primera vez en la Cosmología, y tiene el carácter de elemento o materia/energía básica del Universo, aquello que en su diferenciación y movimiento dará lugar a la existencia del Universo como realidad perceptible.

En suma, las acepciones que se encuentran más consensuadas son:

- Elemento esencial constituyente fundamental del Universo.
- Base y manifestación de los movimientos de Yin y Yang, que se consideran en sí la esencia dinámica de todo lo creado.
- En el cuerpo: Sustancia esencial.
- Actividades funcionales, impulso, función, vitalidad.

En el cuerpo, el Qi tiene dos acepciones prácticas: por un lado se refiere a la sustancia esencial que forma parte del cuerpo humano y puede promover las distintas funciones; por otro lado se refiere a las actividades funcionales de los Zang-Fu (Órganos).

Aunque el Qi es siempre uno, dentro de la Medicina Tradicional China podemos encontrar diferentes divisiones, dependiendo de si hablamos de su función, de su origen o de su actividad.

**Según su función:**

- Impulsión:
  - Impulso para que circulen las sustancias.
  - Impulso para crecimiento y desarrollo del Impulso para crecimiento y desarrollo del organismo.
- Defensa:
  - Función inmunitaria de defensa contra agresiones por patógenos externos.
  - Representada por el Wei Qi que controla la apertura y el cierre de los poros y una correcta termorregulación de la superficie corporal.
- Transformación
  - Corresponde a todo proceso de absorción, asimilación, degradación y evacuación.
  - Esa función es la manifestación de la vitalidad orgánica.

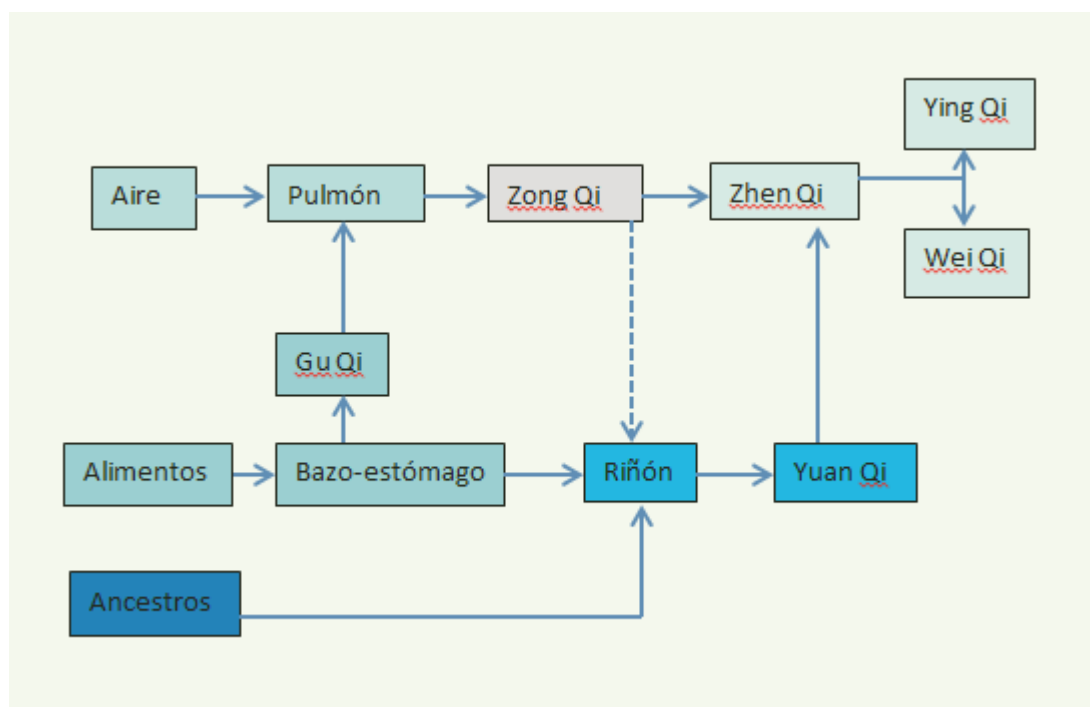
- Calentamiento:
  - Mantener el calor corporal constante.
  - Garantizar el desarrollo de las actividades fisiológicas de meridianos y Órganos.
  - Proporcionar las condiciones para una circulación fluida de Qi, Sangre y Líquidos.
- Contención
  - Retener las sustancias vitales en el cuerpo y evitar su excreción exagerada.

**Según su origen y ubicación:**

- Qi de los Órganos: cada órgano tiene un tipo especial de Qi que condiciona la función a realizar:
  - El Qi de Bazo transforma y transporta los alimentos.
  - El Qi de pulmón controla respiración y mueve el Wei qi.
  - El Qi de corazón gobierna la sangre.
  - El Qi de estómago hace descender los alimentos.
- Qi de los Meridianos: por los meridianos circula principalmente el Qi nutritivo o Jing Qi, pero recibe el nombre del meridiano en el que se encuentre.
- Qi Nutritivo o Ying Qi: circula dentro de los vasos sanguíneos y circula dentro de los vasos vanguardios y Meridianos para nutrir todo el cuerpo.
- Qi Defensivo o Wei Qi: función defensiva como un vapor llenando el espacio entre piel y músculos.
- Qi Congénito o Yuan Qi: es el fundamento de todo tipo de Qi. Se origina en el riñón.
- El Qi del cuerpo humano procede de tres fuentes, y recibe un nombre distinto de acuerdo a su procedencia:
  - Del Qi congénito (Yuan Qi) a través de los riñones lo transforma en Jing Qi. Permite el crecimiento y el desarrollo del organismo determinando los ciclos vitales.
  - De los alimentos: el Bazo/Estómago absorbe los principios inmediatos y los transforma en Gu Qi.
  - Del aire: el Pulmón absorbe la energía transformándola en Qing Qi.

	Proviene de	A través de	En el cuerpo genera
<b>Jing Qi</b>	<b>Progenitores</b>	<b>Riñón</b>	<b>YuanQi o Qi fundamental</b>
<b>Gu Qi</b>	<b>Alimentos</b>	<b>Bazo/Estómago</b>	<b>WeiQi o Qi defensivo</b> <b>YinQi o Qi nutritivo</b>
<b>Qing Qi</b>	<b>Aire</b>	<b>Pulmón</b>	<b>ZongQi o Qi torácico</b>

Esquema 7.- Esquema de las fuentes de origen del Qi.



Esquema 8.- La formación del Qi.

El funcionamiento del organismo depende de la forma en que se distribuye el Qi. El equilibrio en las funciones fisiológicas de los órganos internos depende, no sólo del equilibrio entre ellos y del estado del Qi, sino también de la dirección en la cual circula el Qi. Para que

haya una coordinación entre los órganos y una comunicación entre el medio interno y la superficie corporal, se sostiene que los diferentes tipos de Qi se tienen que mover en una dirección determinada.

El conjunto de movimientos del Qi se conoce como Qiji (126). Los agrupamos en cuatro movimientos básicos.

- Pulmón: Descenso del Qi.
- Estómago: Descenso del Qi.
- Bazo: Ascenso del Qi Bazo.
- Hígado: Ascenso y despliegue.

Los movimientos anormales del Qi son:

- Estancamiento-obstrucción.
- Qi rebelde o a contra corriente.
- Colapso o hundimiento de Qi.
- Escape.
- Bloqueo de Qi.

En el capítulo 68 del “Clásico del Emperador amarillo” podemos encontrar al respecto:

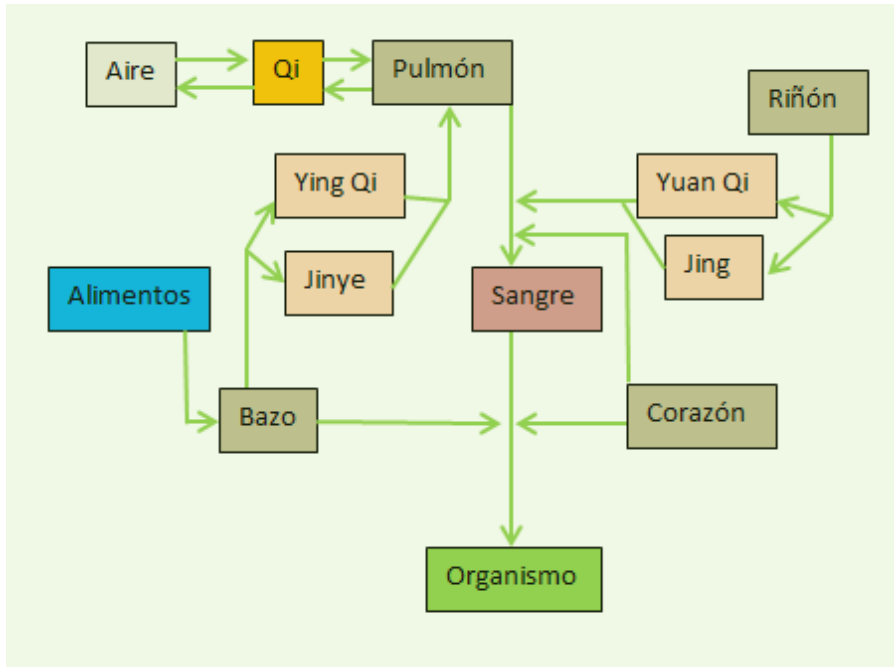
*“Sin la salida-entrada del Qi, no habría nacimiento, crecimiento, madurez y envejecimiento. Sin el ascenso-descenso no habría nacimiento, crecimiento, transformación, cosecha y almacenamiento. Todos los órganos dependen del ascenso- descenso y salida-entrada y movimiento del Qi”*

El Qi forma parte de las tres sustancias fundamentales que constituyen el cuerpo. Las otras dos sustancias son el Xue o la sangre y Jinye o líquidos orgánicos.

La MTCh contempla el funcionamiento del cuerpo y la mente como el resultado de la interacción de ciertas sustancias vitales.

La sangre es contemplada en la MTCh de una manera muy diferente a la Medicina occidental. La sangre o Xue es un tipo de Qi hecho materia densa.

Deriva del Qi de los alimentos que es procesado por el bazo y gracias al Qi de pulmón asciende hasta el corazón donde es transformado en Xue.



Esquema 9.- Esquema de nutrición del Qi y del organismo

Su función principal es la de nutrir el cuerpo, nutre e hidrata los tejidos y la mente, proporcionando a esta última una base material. La sangre es parte del Yin al ser una materia densa semejante a un fluido, su relación con el Qi es antagonista, ya que el Qi es principalmente Yang respecto a la sangre, y le proporciona el movimiento que a ésta le falta. Se podría decir que son inseparables ya que se rigen por las mismas leyes que el Yin-Yang:

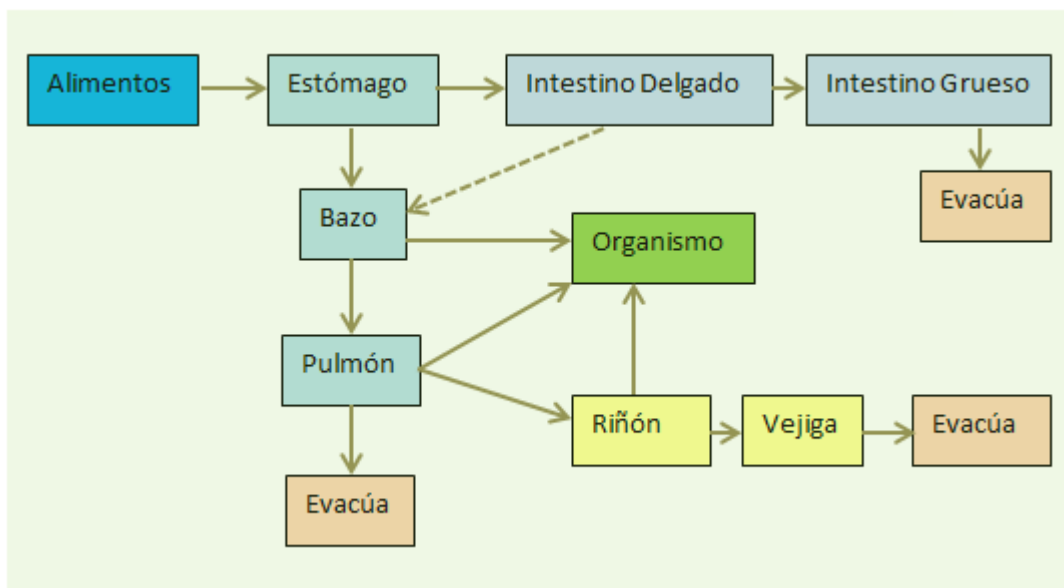
- El Qi genera la Sangre.
- El Qi mueve la Sangre.
- El Qi contiene la Sangre.
- La Sangre nutre el Qi.

Los líquidos orgánicos o Jinye son aquellos líquidos fisiológicos que se encuentran normalmente en el cuerpo, como el sudor, la linfa, el líquido cefalorraquídeo,...

Podemos dividir estos líquidos en:

- Jin: son menos densos, de movimiento rápido controlado por pulmón, su función principal es hidratar.
- Ye: con mayor densidad, de movimiento más lento controlando por bazo y riñón, su función principal es nutrir.

Estos líquidos se originan a partir de nuestra comida y bebida, son el resultado de unas series complejas de procesos de purificación llevados a cabo por el bazo.



Esquema 10.-Esquema del recorrido de los Jin ye.

Hay dos relaciones muy importantes a tener en cuenta entre el Qi y los Jinye:

- El Qi transforma y transporta los líquidos.
- El Qi mantiene los líquidos orgánicos en el interior.

### **3. Teoría de los cinco elementos**

La teoría del Yin-Yang y la teoría de los cinco elementos, forman la base taoísta de la Medicina Tradicional China.

Como ya hemos señalado anteriormente, la Medicina Tradicional China es una forma fundamentalmente taoísta, de entender la medicina y el organismo. El Tao es el origen del Universo, que se sostiene en un equilibrio inestable, fruto de las dos fuerzas primordiales: el Yin (la tierra, el frío, lo femenino) y el Yang (el cielo, el calor, lo masculino), capaces de modificar a los cinco elementos de que está hecho el universo: agua, tierra, fuego, madera y metal. Esta concepción cosmológica determina un modelo de enfermedad basado en la ruptura del equilibrio, y el tratamiento de la misma, en una recuperación de ese equilibrio fundamental.

El Qi fluye por la naturaleza libremente determinando olores, formas, colores, climas, estaciones, emociones,....está presente dentro y fuera de los animales y plantas.

Se trata de una teoría larga y compleja que contempla la creación del universo a través de cinco elementos que, a su vez, son los encargados de mantener el sistema a través de la transformación de las sustancias. Los cinco elementos son: fuego, tierra, metal, agua y madera.

Estos cinco elementos están íntimamente relacionados con el ciclo generativo y destructivo.

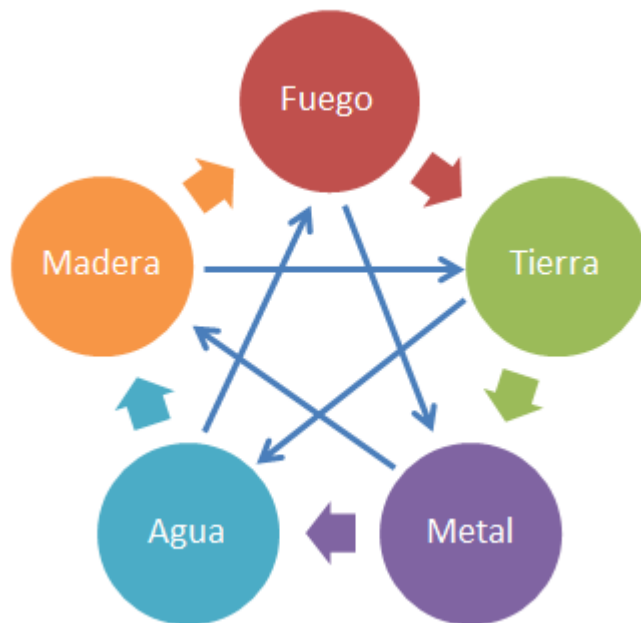
Existen 3 leyes fisiológicas: interdependencia, dominancia y generación.

Interdependencia: implica control mutuo e inhibición mutua, significa que cada elemento puede ser a su vez dominante y dominado. Surge así el ciclo de dominancia KO, donde, por ejemplo, la madera vence a la tierra y ésta al agua, el agua domina al fuego y éste es dominante del metal, y el metal domina a la madera, estableciéndose el ciclo repetitivo. Por lo tanto, existe un equilibrio relativo mantenido entre la intergeneración e interdominancia que ayuda al normal crecimiento y desarrollo de las cosas.

Este ciclo de creación está representado por un círculo en el que cada elemento crea y controla a otros. Es el continuo flujo del Qi.

En el ciclo generativo, llamado Sheng, la madera alimenta al fuego, el fuego produce tierra, la tierra genera metal, el metal filtra el agua y el agua alimenta a la madera.

En el ciclo destructivo, llamando KO, el fuego derrite al metal, el metal corta la madera, la madera debilita a la tierra, la tierra estanca al agua y el agua apaga el fuego.



Esquema 11.-Ciclo de creación (Sheng) y de control (Ko) de los cinco elementos.

Todo lo que se pueda concebir está sujeto a estos cinco estadios. Los taoístas dieron nombre y categorizaron a este fenómeno: Yin y Yang son los nombres de los dos bordes absolutos o caras de una misma entidad. No hay nada que podamos concebir que no esté sujeto a ello. A partir de estos dos bordes, categorizaron en función de la observación de la naturaleza los cinco elementos, cuyos nombres no indican el significado literal, sino más bien hay que entenderlos como los distintos estados y comportamientos de la materia.

Los elementos no son entidades independientes, cada uno tiene su opuesto y controla y es controlado por otro elemento.

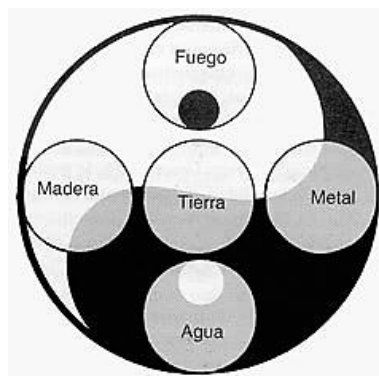
Relacionando los cinco elementos con el Yin y el Yang:

- Agua (Yin absoluto).
- Metal (más Yin que Yang, energía que tiende al Yin).
- Tierra (Centro, equilibrio, se podría decir que es el objeto de los fenómenos).
- Madera (más Yang que Yin, energía que tiende al Yang).
- Fuego (Yang absoluto).

El elemento Agua es Yin absoluto, es la cara opuesta del elemento Fuego, que es Yang absoluto.

El Metal es un elemento que contiene mas Yin que Yang, tiene tendencia hacia el Yin, pero no es el Yin absoluto, y contiene en menor grado a Yang. Como todo lo conceptualizado, no puede escapar de la dualidad Yin/Yang, y por lo tanto, el elemento Metal es la parte contraria del elemento Madera, cuya naturaleza es más Yang que Yin, y su tendencia es hacia el Yang absoluto.

La tierra es el centro, es el objeto donde se manifiestan las transformaciones, contiene a Yin y a Yang en igual proporción, no tiene contrario directo, pero depende de Yin y Yang para ser concebido, es decir, el centro es posible porque existen los polos, creándose así una dualidad que permite la identificación del centro.



*Imagen 13.- Imagen que representa la situación energética de cada uno de los cinco elementos.*

*Fuente: <https://www.emaze.com/@ATIWRZOF/NUTRICI%C3%93N-EMOCIONAL>*

#### **4.- Teoría del Zang-Fu**

Esta teoría se refiere a los órganos internos y sus funciones, que se conocen en la medicina tradicional china como los órganos Zang-Fu, teniendo en cuenta el funcionamiento y su fisiología general.

Los órganos Zang-fu son clasificados en tres tipos, de acuerdo a sus características funcionales fisiológicas:

- 5 Órganos Zang: llamados órganos sólidos, producen y almacenan sustancias nutritivas, la energía (Qi), sangre (Xue), líquidos corporales (Jinye) y energía vital (Jing).

Ejemplo: hígado, corazón, bazo, pulmón, riñón, pericardio. Su función principal es el almacenaje de Qi esencial. Son órganos Yin.

- 6 Órganos Fu: llamadas vísceras huecas, cuya función es la de recibir y digerir los alimentos, absorber y distribuir las materias nutritivas, y formar y excretar los desechos. Ejemplo: vesícula biliar, intestino delgado, estómago, intestino grueso, vejiga y los extraordinarios. Son órganos Yang.
- Órganos Fu extraordinarios: cerebro, médula, huesos, vasos, vesícula biliar, útero. Se parecen a los órganos Zang en la función pero no son órganos Zang. En su forma se asemejan a los órganos Fu, pero no son órganos Fu.

La teoría de los Zang-Fu es la base de la teoría de las manifestaciones de las vísceras.

Los nombres de los órganos Zang-Fu en medicina China son los mismos que en términos biomédicos, pero las connotaciones son diferentes. Los órganos internos de la biomedicina actual, son un concepto morfológico basado en la anatomía. Los órganos Zang-Fu de la medicina China son un concepto funcional que engloba la anatomía, fisiología y patología, sirviendo como una unidad funcional de integración.

Los cinco órganos Yin almacenan sustancia basal y Qi, no evacúan; pueden estar llenos, pero no pueden estar en plenitud. Los seis órganos Yang transforman y digieren, pero no almacenan; pueden estar en plenitud, pero no llenos. Cuando se ingieren alimentos a través de la boca, el estómago está lleno y el intestino vacío; cuando los alimentos se desplazan hacia abajo, el intestino está lleno y el estómago vacío.

En relación a la Teoría del Yin y del Yang nos encontramos que cada órgano Zang, que son Yin a nivel energético, está vinculado a un órgano Fu que es de energía Yang. Esta vinculación condiciona el flujo de Qi que nutre estas estructuras.

La MTCh basa sus teorías en la observación del medio, los grandes Maestros mostraban en sus escritos un amplio conocimiento anatómico de épocas antiguas, las personas entendían las leyes fisiológicas y patológicas del organismo, a través de la observación holística de los fenómenos de la salud y de la enfermedad, lo que proporcionó las bases para la formación de la teoría de las manifestaciones de las vísceras. Como todo en el cosmos, los Zang-Fu están íntimamente relacionados con los 5 elementos, ya que hay órganos que son Yang o más Yin que otros, como muestra de sus diferentes funciones. Además, estos órganos se vinculan a través de los 5 elementos, a otras características, tanto del organismo como del

entorno, formando así un conjunto funcional global y holístico. La MTCh unifica todo el conocimiento del Universo bajo la Teoría de los 5 elementos que es inseparable del Qi y de la dualidad del Yin y del Yang

<b>ELEMENTOS</b>	<b>MADERA</b>	<b>FUEGO</b>	<b>TIERRA</b>	<b>METAL</b>	<b>AGUA</b>
<b>ÓRGANO</b>	Hígado	Corazón	Bazo	Pulmón	Riñón
<b>VÍSCERA</b>	Vesícula biliar	Intestino delgado	Estómago	Intestino grueso	Vejiga
<b>EMOCIÓN</b>	Cólera	Alegría	Obsesión	Tristeza	Miedo
<b>SABOR</b>	Acido	Amargo	Dulce	Picante	Salado
<b>LÍQUIDO ORGÁNICO</b>	Lágrima	Sudor	Saliva	Espujo	Orina
<b>ESTRUCTURA</b>	Uñas, ojos, músculos	Pulso, psiquis, cerebro	Mucosa oral	Piel, vello	Hueso, diente, pelo
<b>ESTACIÓN</b>	Primavera	Verano	5ª estación	Otoño	Invierno
<b>ÓRGANO DE LOS SENTIDOS</b>	Vista	Gusto	Tacto	Olfato	Oído
<b>COLOR</b>	Verde	Rojo	Amarillo	Blanco	Negro

Esquema 12.-Esquema del conjunto funcional de los 5 elementos.

## 5. Teoría del Jing-Luo

Los antiguos Maestros hablaban ya en sus escritos de los Mai, siendo unos conductos por los que discurren las sustancias fundamentales, especialmente el Qi y la sangre (Xue). Fue Solié de Morant a principios del siglo XX quien acuñó el término “meridianos” para hablar de estos conductos del Qi diferenciándolos de los propios de la circulación sanguínea.

Existen múltiples hipótesis respecto al nacimiento y desarrollo de la Teoría de los Jing-Luo o meridianos. La más extendida describe que, al principio, sólo se punturaba en zonas de dolor y los acupuntores observaron que, de esta manera, podían tratar el dolor local, pero también otras dolencias en zonas más alejadas que, generalmente, se encontraban en

zonas de irradiación de la punción. A través de esta observación aumentó el registro de los puntos y se comenzó a relacionarlos entre sí.

Conociendo la evolución de la enfermedad, la evolución de la propia medicina y de los conocimientos anatómicos y las percepciones subjetivas, estos puntos fueron ordenados en distintas clases y con el tiempo se formó la Teoría de los meridianos.

La definición actual de Jing-Luo es que son el conjunto funcional por donde circula el Qi y la sangre, como una red invisible presente en todo el cuerpo y que unifica el conjunto. Estos canales mueven el Qi, mueven el Yin y el Yang y mantienen al cuerpo en equilibrio, conectando el interior con el exterior.

Según esta Teoría, las funciones fisiológicas de los Jing-Luo son:

- Comunicar órganos internos con los externos.
- Servir como camino del Qi y de la sangre.
- Servir como transmisor de estímulos a lo largo del organismo.
- Regulador del equilibrio entre los órganos por el flujo del Yin y del Yang.
- Reflejan desórdenes del sistema, tanto de los Zang-Fu como de la superficie del cuerpo.

## **Tipos de meridianos**

### **a.- Meridianos Jing:**

Doce meridianos principales (Jing):

- Corresponden cada uno a un órgano específico.
- Forman parejas Yin-Yang.
- Tienen recorridos bilaterales.
- Tienen puntos de acceso específicos.
- Meridianos Yin: Pulmón, Riñón, Hígado, Corazón, Pericardio y Bazo.
- Meridianos Yang: Intestino grueso, Vejiga, Vesícula Biliar, Intestino delgado, Triple calentador (sist. Conducción como el sistema neuroendocrino) y Estómago.

Ocho meridianos extraordinarios:

- Actúan como reservorios de energía.
- Unen entre si meridianos principales.
- No comunican con órganos.
- Sólo 2 de ellos (Renmai y Dumai) tienen puntos propios.
- Son Dumai o Vaso Gobernador, Renmai o Vaso Concepción, Chongmai o Vaso penetrante, Daimai o meridiano cinturón, YinWeimai o meridiano de unión de los Yin, YangWeimai o meridiano de unión de los Yang, Yinqiaomai o meridiano de motilidad de los Yin y Yangqiaomai o meridiano de motilidad de los Yang.

Doce ramas secundarias:

- Parten de los meridianos principales.
- Intensifican la comunicación entre los meridianos emparejados y sus órganos.
- Distribuyen el Qi y la Sangre a la cara y cabeza.
- No tienen puntos propios.

### **b.- Meridianos Colaterales:**

Quince colaterales largos (Luo):

- Unen los meridianos que corresponden a parejas entre Zang y Fu.
- Corresponden cada uno a un órgano, menos el Bazo que tiene dos.
- Tiene sentido de red.

Colaterales superficiales:

- Circulan por toda la superficie del cuerpo.

Colaterales menudos:

- Son los más finos, el tramo final de la red que lleva el Qi y la Sangre a todo el cuerpo.

**c.- Otros meridianos:**

Doce meridianos músculo tendinosos:

- Son segmentos a través de los que los 12 meridianos principales pasan a la superficie.
- Tienen una relación muy estrecha con el sistema óseo y muscular. Sus recorridos siguen líneas anatómicas.
- Circulan por la superficie y no penetran en los Zang-Fu.
- Controlan los movimientos articulares.

**6. Reglas para la selección de los puntos en terapia**

Con el fin de obtener los mejores resultados en nuestro tratamiento, es necesario conocer las Teorías anteriormente descritas, ya que son la base del funcionamiento del organismo según la MTCh.

Conocer la función de cada meridiano nos ayuda a reconocer qué es lo que se está viendo afectado con la enfermedad, qué órgano o función se ve alterado, y nos orienta a la hora de decidir qué zona vamos a punturar.

Conocer el flujo del Qi, su mecanismo de formación y como fluye dentro del organismo, nos ayuda a establecer un mecanismo lesional a tratar e, incluso, a prever su evolución y poder realizar así un tratamiento preventivo.

Conociendo las características del Yin y del Yang podremos dictaminar la naturaleza de la enfermedad de manera más precisa y, en consecuencia, el tipo de efecto que queremos lograr con la punción o tratamiento elegido.

Entender los vínculos que condicionan los estados de la materia en relación a la Teoría de los cinco elementos, favorece la correcta realización del diagnóstico y los resultados de nuestro tratamiento.

A través de las diferentes formas de punción, podemos conseguir efectos de estimulación o de inhibición, no sólo sobre el punto o meridiano tratado, sino que, también, podemos lograr efectos a distancia en regiones alejadas y, en otros sistemas vinculados a los puntos tratados. No debemos olvidar que la MTCh también contempla el tratamiento de las funciones de la psique.

## 7. Tipos de agujas

Se han descrito en la historia de la acupuntura (hace 2200 años, en el Ling Shu), las “nueve agujas”: con forma de punta de flecha (Chan), afilada en forma de espada y circular pero cortante (Pi), de grano de mijo (Di), prismática (Feng), ancha y redondeada (Yuan-li), filiforme (Hao), puntiaguda (Chang) y redondeada (Da) (126).



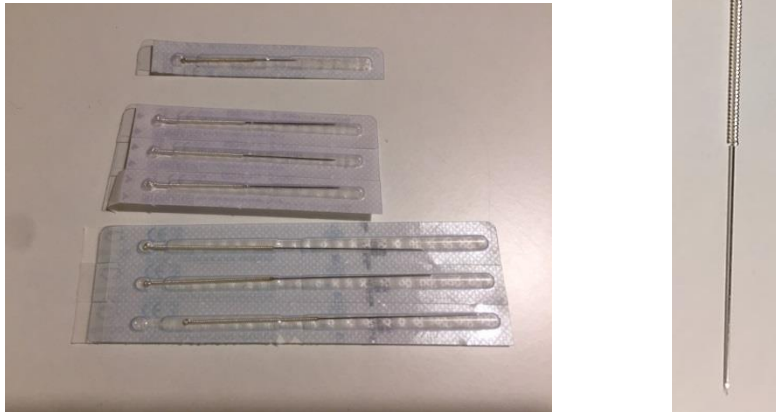
Imagen 14.-Tipos de agujas tradicionales. Fuente:

<http://acumedic.blogspot.com.es/2014/02/agujas-de-acupuntura.html>

En la clínica diaria las agujas más utilizadas son las Hao (filiformes) de acero inoxidable quirúrgico, de alta calidad y gran flexibilidad.

Podemos encontrar gran variedad de tipos de agujas en el mercado: de acero inoxidable, con baño de oro, con baño de plata, con baño de cobre, con cabeza, sin cabeza, con mango metálico, con mango de plástico, con o sin tubo guía, etc. Además, estas agujas están fabricadas en condiciones de absoluta esterilidad por lo que no se recomienda reutilizarlas por motivos de higiene.

La longitud de la aguja dependerá del tipo de animal a tratar y del lugar del cuerpo a punturar: no utilizaremos agujas con la misma longitud y calibre para un caballo que para un gato, ni utilizaremos tampoco, el mismo tipo de aguja para un punto situado en una zona donde haya mucha masa muscular, como por ejemplo en el área lumbar, o en áreas con hueso.



*Imagen 15.- Agujas de acupuntura tipo Hao de acero inoxidable con mango rugoso y cabeza redonda.  
Fuente: propia.*

Cada acupuntor deberá probar las que mejor se adecuen a sus necesidades. Igualmente, el mercado nos ofrece una gran variedad de longitudes y calibres, para ajustar nuestro trabajo a las diferentes especies animales.

En caballos, las agujas más frecuentemente usadas son:

- 1 cun o 25 mm.
- 1,5 cun o 40 mm.
- 3 cun o 75 mm.

La medición cun (tsun):

Tradicionalmente, en la acupuntura, se usa la medida Tsun (cun) para indicar la situación de los puntos respecto a referencias anatómicas. Es un sistema de medida individual para cada paciente, por eso no hay una medida absoluta.

En los humanos, un Tsun es la anchura del 1<sup>er</sup> dedo a la altura de la articulación interfalángica del primer dedo del paciente.

En el caballo un Tsun es el ancho de la decimosexta costilla a nivel de la protuberancia de la cadera (126).

## **8. Tipos de punción**

En función de nuestra pericia con la aguja y la zona donde vayamos a punturar, podemos introducir las agujas de diferentes formas.

- a. Punción con la piel tensada. Se usa cuando vamos a punturar sobre tejido elástico o con acumulación de grasa, como en la región del abdomen.
- b. Punción ejerciendo presión con la uña. Puede disminuir el dolor del pinchazo. En zonas poco elásticas con masa muscular hipertónica o con alta sensibilidad.
- c. Punción guiando la aguja con la otra mano (Gasa estéril). Cuando necesitamos hacer una punción profunda, usaremos agujas más largas que pueden ceder ante la presión de nuestros dedos y la resistencia ejercida por el tejido a punturar. En estos casos, para evitar que se doble la aguja y facilitar la penetración de la misma, podemos guiar el cuerpo de la aguja sosteniéndola con una gasa estéril hasta llegar a su profundidad final.
- d. Punción en la piel pinzada. Técnica muy usada en puntos situados sobre estructuras óseas con poco tejido subcutáneo.
- e. Punción vertical. Zonas corporales musculares o adiposas.
- f. Punción oblicua. Ángulo de 30-50°. Usada en zonas con poco tejido blando y con riesgo de punturar zonas peligrosas (neumotórax). Frecuentemente usada en tórax y cráneo.
- g. Punción horizontal. En puntos situados debajo de una capa muy fina de tejido blando. Usada en cráneo.

El objetivo de la punción de un punto de acupuntura es el de acceder a un meridiano concreto para equilibrar su energía. Cuando existe enfermedad en un cuerpo es una prueba de desequilibrio del Qi que circula por los meridianos.

El diagnóstico en la MTCh es un proceso muy complejo de observación y palpación de diferentes estructuras. Los diagnósticos no sólo determinan la zona a tratar, sino que también aportan información sobre el tipo de desequilibrio que padece el cuerpo y qué agente perverso es el responsable. Tras obtener esta información se decide dónde y cómo se va a punturar.

El dónde depende de las estructuras afectadas y el cómo está condicionado por el tipo de desequilibrio responsable de la enfermedad.

Simplificando mucho esto último, podemos encontrarnos con desequilibrios del tipo:

- Exceso de Yang.
- Defecto de Yang.
- Exceso de Yin.
- Defecto de Yin.

En los estados de plenitud o exceso, se realizarán técnicas de dispersión, que consisten en realizar movimientos amplios de rotación y elevación y hundimiento de la aguja con baja frecuencia.

En los estados de vacío o defecto, se realizaran técnicas de tonificación, generando movimientos cortos de giro de la aguja con elevación y hundimiento de la misma, y elevada frecuencia.

### **iii. - Efectos fisiológicos de la punción de la Acupuntura.**

A nivel local, el hecho de puntar la piel y el tejido subcutáneo con una aguja conlleva:

- Diferencia de potencial eléctrico entre la aguja y la piel. Inicialmente, la diferencia en potencial eléctrico que existe entre la aguja y las capas de la piel dónde se pone, la diferencia en la temperatura entre la aguja y la piel y la calidad de la aguja, crea una corriente galvánica de intensidad baja. Eso significa que la aguja es una fuente de microenergía. Esta corriente eléctrica es capaz de estimular la membrana celular, de aumentar su permeabilidad y finalmente, de transformar la acumulación de iones de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> en los dos polos de la membrana (el intra y extracelular), y conduciendo a las células, los receptores sensoriales adyacentes y las terminaciones nerviosas libres a un estado de excitabilidad.
- Es más, las lesiones celulares de la piel (en particular de las células del mástil de la capa de Lewis) provocan una secreción de bradikinina, serotonina y enzimas proteolíticas, ACTH y también de histamina, todas alrededor de la aguja (127,128).
- Después de retirar la aguja, la distribución desigual de potencial eléctrico (debido a la concentración alta de iones de K<sup>+</sup>) alrededor de los bordes de la lesión, crean campos eléctricos de flujo de potenciales que, actúan como estimuladores de las terminaciones libres de la piel durante 72 horas después de la aplicación de la acupuntura. La naturaleza del estímulo varía según la aguja, la profundidad de la lesión, la calidad de los tejidos y el estado del sistema nervioso del paciente (127,128,129).
- Estimulación de terminaciones nerviosas libres.

- Los estudios realizados en animales con agujas de 0,45mm, de calibre han demostrado que hay regeneración muscular completa sin rastro alguno de cicatriz fibrosa.
- Con este tipo de punción el tiempo estimado para que se produzca la regeneración completa es de 7 a 10 días.
- A los 7 días se había producido el ensamblaje completo de los miotubos en los extremos lesionales, pero los miocitos así formados serían jóvenes y no alcanzarían su madurez completa hasta el décimo día postlesional.

Efectos sobre el Sistema Nervioso:

La Acupuntura tiene en el Sistema Nervioso Central y Periférico, un efecto que produce la activación de los mecanismos endógenos moduladores del dolor y la liberación de diferentes neurotransmisores. Se podría decir que la Acupuntura es Neuromodulación (129).

La estimulación con acupuntura de las fibras nerviosas que se produce en los músculos, fascias, tendones o tejido periarticular y óseo, genera impulsos hacia la médula espinal y activa varios centros en el cerebro, para la liberación de neurotransmisores que tienen un efecto homeostático en todo el organismo. Produce una modulación de la actividad neural en el diencefalo, que influye en las funciones autonómica, endocrina e inmune, a través del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, regulando la liberación de ACTH, vasopresina y cortisol, conduciendo a la homeostasis.

#### **iv. - Evidencia científica de la Acupuntura y de la existencia de los meridianos:**

No hay evidencia científica de la existencia de los puntos de acupuntura ni meridianos como entidades propias. Sí hay evidencia de la eficacia de la acupuntura en el tratamiento de diferentes patologías.

A continuación pasamos a resumir los estudios más relevantes respecto a la Acupuntura, los puntos de acupuntura y la existencia de los meridianos con sus respectivas conclusiones:

- Año 1950. Yoshio Nakatani (130) demostró que con determinadas enfermedades de los órganos, una serie de puntos, a lo largo del meridiano de ese órgano, disminuían notablemente su resistencia eléctrica comparada con la piel circundante. Por ejemplo, en enfermedades del riñón, diversos puntos correspondientes al mismo, bajan la resistencia

de la piel. Encontró que los valores de la resistencia de estos puntos varían con la hora, la temperatura ambiental de la acupuntura, la actividad y el estado emocional del sujeto.

- Año 1970. El Dr. Robert Becker y sus colaboradores (131), identificaron, igualmente, que los valores de resistencia medidos en los puntos de acupuntura, se habían reducido a más del 50% en puntos relacionados con la enfermedad que se estaba estudiando en ese momento en ratas, respecto a otros puntos del mismo meridiano. Becker sugirió que los acupuntos actúan como amplificadores de un semi conductor de Corriente Directa (CD) que viaja a lo largo de las células perineurales que envuelven a cada nervio del cuerpo. Este sistema de CD se vuelve más negativo conforme viaja a los extremos de los dedos de la mano y del pie y más positivo conforme regresa a la cabeza y al tronco (es decir, el flujo del Yin - Yang).

Se sabía que la piel actúa como una batería (en el exterior la piel es negativa y en el interior es positiva) y Becker encontró que el punto de acupuntura es más positivo que la piel que lo rodea. La inserción de una aguja produce un cortocircuito en esta batería y genera una corriente que la daña por varios días. La actividad eléctrica adicional se produce a causa de:

- La reactividad iónica entre la aguja metálica y los fluidos corporales.
  - Los pulsos eléctricos de baja frecuencia producidos al girar la aguja.
- Año 1978, Luciani (132) tomó fotografías Kirlean del efecto de los LED (diodo de emisión de luz) de acupuntos a lo largo del meridiano del Intestino Delgado y del Intestino Grueso.

Esto generó que la energía eléctrica fluyera a lo largo de este sistema de CD hacia el cerebro de forma análoga a la descrita por el Chi en la acupuntura clásica.

- Año 1985. La existencia del sistema de meridianos fue establecida por el investigador francés Pierre de Vernejoul (133), inyectando isótopos radiactivos en los acupuntos de los seres humanos, siguiendo sus movimientos con una cámara especial de imágenes gamma. Los isótopos viajaban treinta centímetros a lo largo de los meridianos de acupuntura en lapsos de cuatro a seis minutos. Vernejoul, desafió su trabajo inyectando isótopos en el torrente sanguíneo en diversas áreas del cuerpo, de forma aleatoria y no en los acupuntos. Los isótopos no viajaban de la misma forma, indicando con ello que los meridianos, en efecto, conforman un sistema de vías separadas dentro del cuerpo.

Los mismos investigadores inyectaron tecnecio radiactivo en los acupuntos de los pacientes, usando un equipo de exploración nuclear para seguir el flujo del tecnecio. También lo inyectaron fuera de los acupuntos. Cuando no era un acupunto, el trazado radiactivo se difundía hacia el exterior desde el sitio de la inyección, formando patrones circulares. Al inyectarse en los verdaderos acupuntos, el tecnecio radiactivo, siguió exactamente las vías de los meridianos de la acupuntura señalados en los antiguos gráficos del cuerpo humano. También encontraron que, al insertar las agujas de acupuntura en acupuntos lejanos a lo largo del mismo rastreador de meridianos y girarlas, se producía un cambio en la tasa de flujo del tecnecio a través de los meridianos. Esta investigación apoya la antigua afirmación china de que la estimulación producida por la aguja de acupuntura afecta el flujo del Qi a través de los meridianos del cuerpo.

Conclusión: La velocidad de la migración y las pautas de un rastreador radioactivo a lo largo de las vías, que coinciden con los meridianos de la acupuntura china, muestran que estas vías no tienen un origen vascular ni linfático. Estas vías muy probablemente, están relacionadas con la difusión del tejido conectivo, los paquetes neurovasculares a lo largo de las extremidades que eran las zonas de estudio. Los resultados sugieren la hipótesis de la intervención de mecanismos neuroquímicos en la transmisión de información.

- 1990. Kovacs *et al.* Recorrido de los meridianos tras inyectar Tecnecio, control por RMN (134).  
2000- Kovacs *et al.* Movimiento hipodérmico del Tecnecio y su relación con las estructuras cutáneas. Estudio en perros (135).
- Desde 1999- Helene M. Langevin tiene publicados más de 40 artículos científicos respecto a esta materia, desde donde relaciona el recorrido de los meridianos con el tejido fascial hasta donde se estudia la capacidad de estiramiento del tejido conjuntivo durante la punción y la rotación de la aguja.

Respecto a los efectos de la rotación de la aguja:

Investigaciones posteriores por Langevin se han centrado en los efectos de las células de tejido de agujas de acupuntura rotativas. En particular, Langevin descubrió que:

- La manipulación de la aguja de acupuntura transmite una señal mecánica a las células del tejido conectivo a través de la mecanotransducción (136). El mecanismo básico de mecanotransducción implica la conversión de señales mecánicas en señales eléctricas o químicas.
- Mediante el uso de la elastografía de ultrasonidos, los patrones de desplazamiento de tejido, por acupuntura, pueden ser mapeados espacial y temporalmente.
- El aumento de la rotación de la aguja de acupuntura, actúa como un estímulo mecánico eficaz, con resultados en el aumento del desplazamiento del tejido (137).

Respecto a los meridianos de la acupuntura:

En 2002, Langevin publicó un estudio en el que halló que la localización de los meridianos de acupuntura correspondía a la de los planos de tejido conjuntivo el 80% del tiempo (138).

Relación entre meridianos y tejido conectivo:

En general, más del 80% de los puntos de acupuntura y el 50% de las intersecciones meridianas del brazo, parecían coincidir con los planos intermuscular o intramuscular del tejido conectivo. Están situados en zonas de cruce de planos de tejido conjuntivo.

Estos hallazgos sugieren que la localización de los puntos de acupuntura, determinada empíricamente por los antiguos chinos, se basó en la palpación de discretas localizaciones o "agujeros" en los que la aguja puede acceder a mayores cantidades de tejido conjuntivo.

En los puntos de acupuntura respecto a los puntos de control (2 cm laterales a estos mismos) hay que hacer un 18% más de fuerza para sacar la aguja tras la rotación.

El enganche de la aguja:

El enganche de la aguja depende de los componentes celulares implicados en la respuesta de bobinado a las agujas de acupuntura. Los fibroblastos que residen en el tejido conjuntivo, a varios centímetros de distancia de la aguja, comienzan a reorganizar su citoesqueleto interno y cambiar de forma, convirtiéndose en grande y plana (139). También se encontró que la misma respuesta de reorganización podría ser obtenida, simplemente, al estirar una pieza de tejido conectivo entre dos mordazas y sosteniendo el tejido en la posición estirada durante, aproximadamente, 30 minutos, o incluso colocando un ratón anestesiado doblando su cuerpo hacia un lado (140).

Curiosamente, 30 minutos es la cantidad de tiempo, que típicamente, las agujas se dejan en su lugar durante un tratamiento de acupuntura. Por otra parte, si se suelta la aguja después de girar, la aguja no se desenrolle de forma inmediata. Así, la "espiral" de tejido conectivo permanece intacta, siempre y cuando la aguja permanezca debajo de la piel, haciendo que el tejido se estire durante un periodo prolongado.

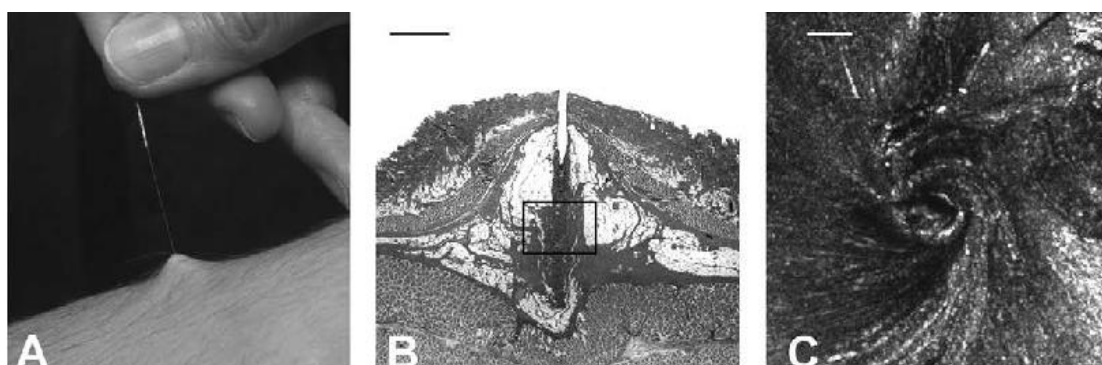


Imagen 16.- Imágenes del enroscamiento del tejido conjuntivo durante y tras la punción.  
Fuente: [https://www.med.uvm.edu/neuro/langevin\\_lab](https://www.med.uvm.edu/neuro/langevin_lab)

Respecto a la sensación de Qi a lo largo del meridiano:

Al realizar una punción en MTCh, la estimulación de la aguja, ya sea para tonificar el punto o para dispersar el meridiano, genera una sensación “de Qi” a lo largo del meridiano.

Se ha planteado la hipótesis de que en la proximidad de la aguja, la polimerización de actina inducida por la acupuntura en los fibroblastos del tejido conectivo, puede provocar que estos fibroblastos se contraigan, provocando un mayor tirón de las fibras de colágeno

y una "ola" de contracción del tejido conectivo y activación celular Extendiéndose a través del tejido conectivo. Este mecanismo puede explicar el fenómeno de "sensación propagada", es decir, la propagación lenta de la sensación Qi a veces reportada por los pacientes a lo largo del curso de un meridiano de acupuntura (141).

#### **v. - Acupuntura en la especie equina**

En lo que a los caballos concierne, la mayoría de los estudios realizados recientemente con Acupuntura o alguna de sus variantes, como puede ser la Farmacopuntura, Acuapuntura o Electroacupuntura se han orientado principalmente a valorar su eficacia en el tratamiento de patologías concretas.

Los estudios más comunes realizados desde el año 1980, en el caballo son, por un lado, las revisiones sistemáticas (142,143,144,145,146,147) sobre la Acupuntura en caballo, en los que se da un enfoque muy global de la técnica y sus aplicaciones, se describe la base de la MTCh, sus efectos a nivel local y su eficiencia en el tratamiento de patologías tanto mulculoesqueleticas, como neurológicas, como viscerales o su falta de eficiencia en los tratamientos (148,149). Y por otro lado nos encontramos con un gran número de estudios en el que se evalúa la eficiencia del tratamiento acupuntural en el tratamiento del dolor, diferenciando si es crónico o agudo, pero sin vincularlo a una patología en concreto (150, 151, 152, 153,154).

El resto de los estudios están orientados al tratamiento de patologías comunes en los caballos. Hay autores (155) que han realizado trabajos valorando los resultados del tratamiento acupuntural de desórdenes gastrointestinales con unas buenas conclusiones y, por otro lado, estudios (156) que inducen el cólico en caballos para tratarlos posteriormente con Acupunutra, con escasos resultados en los que a la distensión duodenal se refiere.

La laminitis es una patología frecuente y muy invalidante que pueden sufrir los caballos en sus cascos por malos cuidados del herraje, mala pisada, falta de higiene en los boxes o cambios bruscos en la alimentación. Los estudios (157, 158, 159,160) muestran resultados controvertidos, ya que no están descritos claramente ni los tratamientos, ni los tiempos, ni frecuencia de aplicación de la Acupuntura. Además, no se hace diferenciación en si la patología está acompañada o no del Síndrome del Navicular que es un factor determinante en la evolución de la patología.

En los estudios donde mejores resultados se recogen es en aquellos en los que se usa la Acupuntura para el tratamiento de patología músculo-esquelética.

Uno de los estudios (161) fue realizado en 15 caballos de competición que presentaban dolor crónico, de seis meses de evolución que les invalidaba para la competición. El tratamiento consistió en inyectar 1ml de ClNa en 9 puntos de acupuntura. El tratamiento se realizó en 4 ocasiones y antes de seis meses 11 de los caballos habían vuelto a la competición, dos de los ejemplares mejoraron pero no lo suficiente como para volver a la competición, otro sufrió una fractura en una mano y otro murió.

En otro estudio (162) se llevó a cabo una comparativa entre el tratamiento de acupuntura en 15 caballos, acupuntura con láser en 15 caballos y un último grupo con inyección salina en puntos de acupuntura, en otros 15 caballos. Los caballos recibieron el tratamiento durante 8 semanas, una vez a la semana. Al finalizar, 13 caballos del primer grupo, 11 del segundo y 13 del tercero pudieron volver a la competición.

Otro estudio (163) fue realizado en 15 caballos con antecedentes de dolor crónico de dorso y que no habían tenido buena respuesta con otros tratamientos. Recibieron tratamiento de acupuntura de 20 minutos de duración, semanalmente. Al finalizar el estudio 13 de los 15 caballos fue capaz de recuperar su funcionalidad normal.

Se abren nuevos campos de actuación de la Acupuntura pero aún no hay muchos trabajos que avalen su efectividad, hablamos de la cirugía con analgesia acupuntural (164), tratamientos geriátricos en caballos (165), valoración de cambios pulmonares y de mejora del patrón ventilatorio en la patología respiratoria (166) y tratamiento de la infertilidad en yeguas (167).

En 2016 se realizó un interesante estudio (168) sobre cómo la realización de tres tipos de tratamiento de Acupuntura, definidos previamente y realizándose durante 8 días pueden mejorar la marcha en caballos que sufren laminitis. La conclusión de este estudio es que la acupuntura puede cambiar la marcha de los caballos en un grado apreciable por análisis objetivos y subjetivos.

Por último, hay que mencionar los estudios en los que se intenta valorar los efectos de la Acupuntura en el SN y en el Sistema Neuroendocrino a través del registro de la FC, de los niveles de Cortisol, niveles de ACTH y otros neurotransmisores que veremos más en profundidad en el capítulo de Discusión.



# **Material y métodos**

---



Antes de determinar el protocolo de puntos que íbamos a usar definitivamente para nuestro estudio, fuimos probando la punción de puntos aislados o diferentes combinaciones que se habían propuesto en otros estudios (170, 171, 172, 173,174) con el fin de conseguir los objetivos que hemos planteado.

Las punciones realizadas fueron:

- Punción 1: Baihui.
- Punción 2: Baihui, Vejiga60 (V60) en el lado derecho, Pericardio6 (Pc6) en el lado derecho.
- Punción 3: Baihui, V60 en el lado derecho, Vaso Gobernador16 (VG16).
- Punción 4: Baihui, Pc6 en el lado derecho, VG16, VG20, Vaso Concepción17 (VC17).
- Punción 5: Pc6 bilateral, VG16, Baihui, V60 bilateral.

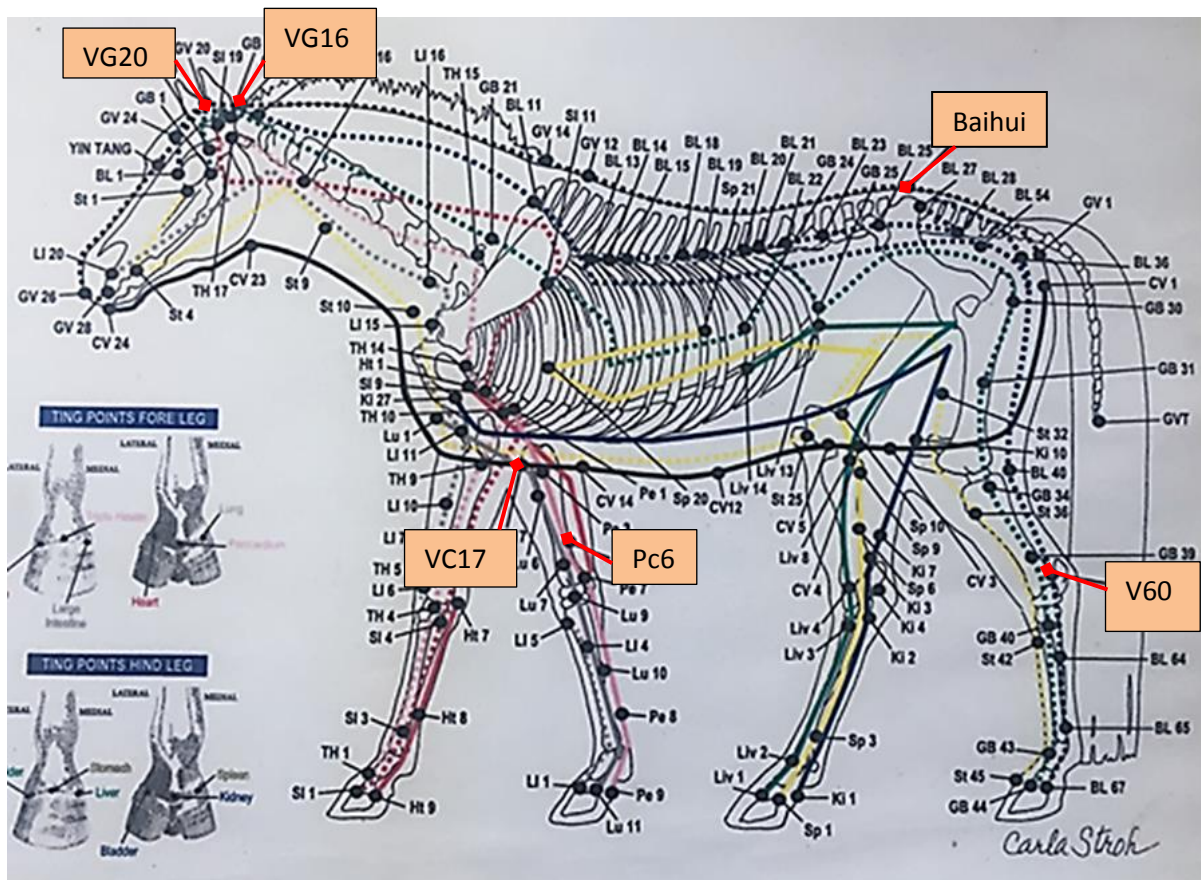


Imagen 17.-Localización de los puntos de acupuntura seleccionados. Fuente: <https://www.acuprime.com/product/equine-acupressure-meridian-chart/>

Descripción de los puntos y características de la punción:

- Bai- hui animal, la puerta del cielo o el punto de las 100 reuniones: es un punto Extra en caballos respecto al meridiano de Dumai en el humano. Está localizado en la línea media dorsal, en el espacio lumbosacro entre L6 y S1. También es conocido como GV03-1 o 2VGBis (en los textos franceses) (175). En el espacio lumbosacro no hay procesos espinosos ni ligamento interespinoso. Este punto alivia el estrés, abre la mente y le otorga claridad.

Es conocido por sus cualidades ansiolíticas, tranquilizadoras y sedantes (176, 177, 178,179) y por su capacidad de someter o descender la energía Yang del cuerpo.

Tipo de punción: perpendicular.

Profundidad de la punción: 3- 3'5 cm.

Técnica de aplicación: tonificación.

- Vejiga 60 (V60), Kun Lun o Montaña Kun Lun: situado en la cara lateral del tarso, proximal al calcáneo entre la tibia y el tendón del gastrocnemio.

Su estimulación está especialmente aconsejada cuando se tiene cualquier tipo de dolor, siendo de este modo, un punto fundamentalmente analgésico.

Tipo de punción: perpendicular.

Profundidad de la punción: 2-3 cm.

Técnica de aplicación: tonificación.

- Pericardio 6 (Pc6), Nei Guan o Barrera interna: situado 2 cun por encima del pliegue del carpo. En la cara antero-interna del antebrazo por delante del espejuelo.

Es un punto indicado para gestionar el nerviosismo.

Tipo de punción: oblicua en sentido caudal a favor del sentido del meridiano de Pericardio.

Profundidad de la punción: 1-2 cm.

Técnica de aplicación: tonificación.

- Vaso Gobernador o Dumai 16 (VG16), Fengfu o Palacio del Viento: se encuentra en la línea media dorsal debajo de la protuberancia occipital, en una pequeña depresión a 1 cun por encima de la línea occipital. En la articulación atlanto-occipital.  
Es un punto psicomental que dispersa el viento y calma el Shen (mente). Muy usado en problemas de comportamiento.  
Tipo de punción: perpendicular.  
Profundidad de la punción: 2 cm.  
Técnica de aplicación: tonificación.
- Vaso Gobernador 20, Baihui humano o punto de los 100 encuentros: se encuentra en la línea media dorsal de la cabeza entre las orejas. Justo por detrás de la confluencia de las líneas temporales.  
Es un punto indicado en desordenes de estrés, aporta serenidad y claridad a la mente.  
Tipo de punción: perpendicular.  
Profundidad de la punción: 2 cm.  
Técnica de aplicación: tonificación.
- Vaso concepción 17, Renmai 17 (VC17), Shan zong o centro del pecho: situado en la línea media ventral a la altura del codo y del 7º espacio intercostal.  
Es un punto de influencia sobre el Sistema respiratorio y el Qi.  
Tipo de punción: oblicua en dirección caudal en el sentido del meridiano.  
Profundidad de la punción 2-3cm.  
Técnica de aplicación: tonificación.

TIPO PUNCIÓN	Nº EJEMPLARES TOTAL	Nº EJEMPLARES CASTRADOS	Nº EJEMPLARES ENTEROS	INCIDENCIAS
<b>Punción 1</b>	6	2	4	Los caballos se relajan, pero no hay demasiados cambios en las mediciones de las variables fisiológicas
<b>Punción 2</b>	5	1	4	Los caballos no toleran bien la punción de Pc6, movían mucho las manos y se terminaban por quitar la aguja
<b>Punción 3</b>	34	10	24	Algunos ejemplares no toleraban bien VG16, movían mucho la cabeza y se rascaban
<b>Punción 4</b>	1	-	1	El ejemplar no tolera bien la punción de Pc6, está inquieto con las manos y se intenta quitar esas agujas
<b>Punción 5</b>	1	-	1	Poca tolerancia a la punción bilateral de Pc6

Esquema 12.-Tabla de los cinco tipos de punciones realizadas.

Tras realizar los 5 tipos de punciones y ver que la nº 3 era la más adecuada para obtener resultados acordes con los objetivos planteados, se seleccionó este tipo de punción que se realizó en 34 ejemplares, 24 de ellos enteros y 10 de ellos castrados.

Para realizar la selección de los grupos, en el caso de los caballos castrados, no se rechazó ningún ejemplar ya que el estado en el que se había hecho el estudio era el idóneo: medio tranquilo y sin interrupciones.

En cambio en el caso del grupo de los caballos enteros, rechazamos 4 ejemplares por los siguientes motivos:

- 1 ejemplar por mala tolerancia a la punción.
- 3 ejemplares porque las condiciones en las que se realizó el estudio no fueron las adecuadas, al no ser posible mantener un ambiente tranquilo, sufriendo diferentes interrupciones o situaciones que alteraban al animal.

#### **A. Animales, protocolo de recogida de muestras y tipos de punción**

Para la realización del estudio se utilizaron 30 ejemplares de *Equus caballus*, todos machos, divididos en dos grupos: uno de caballos enteros y otro de caballos castrados.

Las muestras de los ejemplares fueron recogidas en sus instalaciones de residencia entre los años 2012 y 2014. Las muestras se recogieron entre las 11:00 y las 13:00, teniendo en cuenta que el horario de desayuno y trabajo de los caballos era similar.

Las edades de los caballos usados se encuentran entre los 5 y los 20 años, teniendo una media de edad en cada grupo de entre 12,8 y 13,6.

Para la selección de los ejemplares se determinaron los siguientes criterios de exclusión:

- No padecer ninguna patología respiratoria, ni cardiovascular, ni urinaria, ni neurológica aguda o crónica.
- No haber padecido ninguna patología de las anteriormente mencionadas en los últimos tres meses.
- No haber tomado medicación desde hace un mes.
- Yeguas o potros.

NOMBRE		RAZA	
EDAD		ENTERO	
LUGAR		CASTRADO	
<b>ACUPUNTURA</b>	FECHA	HORA	

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:	Patolog. Cardiovasc. Aguda/crónica.	Patolog. Resp. Aguda/crónica.	Patolog. Urinaria Aguda/crónica.	Medicación.	Enf. Neurológicas.

INCIDENCIAS:

Imagen 18.- Hoja de selección de datos de ejemplares. Fuente: propia.

Grupos:

i.- Grupo I: Grupo de caballos enteros formado por 20 caballos:

10 caballos de la Raza Hispano Bretón (HB).

10 caballos de Pura Raza Española (PRE).

Media de edad: 13,4 años.

Ejemplares de PRE.: La toma de muestras se realizó entre noviembre del 2012 y agosto del 2013, todos los ejemplares menos 2, pertenecen a la Guardia Real Española de Madrid (GR), los 2 caballos restantes son de la Hípica Valdecuestre, sita en Valdeaveruelo, Guadalajara.

Ejemplares HB: la toma de muestras se realizó entre agosto del 2013 y enero del 2014 en las instalaciones de la Guardia Real Española de Madrid.

*Anexo1.*

ii. - Grupo II: Grupo de caballos castrados formado por 10 caballos de diferentes razas.

Media de edad: 12,8 años.

La toma de muestras se realizó entre noviembre del 2012 y abril del 2014, todos los ejemplares menos uno, pertenecen a la Hípica Valdecuestre, anteriormente mencionada, el otro ejemplar pertenece a la Guardia Real Española de Madrid.

*Anexo 2.*

GRUPO	EJEMPLAR	RAZA	EDAD	SEXO	LUGAR	PUNCIÓN3: bahui, VG16, V60(dcho)
1	ALBOR	HB	11	ENTERO	GR	07/08/2013
1	TON	HB	15	ENTERO	GR	02/10/2013
1	UNO	HB	14	ENTERO	GR	09/10/2013
1	REDUCTOR	HB	11	ENTERO	GR	30/11/2013
1	DOBRA	HB	8	ENTERO	GR	13/11/2013
1	LOGISTICO	HB	20	ENTERO	GR	20/11/2013
1	EOLO	HB	7	ENTERO	GR	27/11/2013
1	TOTEM	HB	16	ENTERO	GR	15/01/2014
1	URO	HB	15	ENTERO	GR	22/01/2014
1	ELEGANTE	HB	19	ENTERO	GR	29/01/2014
1	TIMBALERO	PRE	5	ENTERO	VALDECUESTRE	27/11/2012
1	ROMEO	PRE	9	ENTERO	VALDECUESTRE	09/01/2013
1	PRÍNCIPE	PRE	13	ENTERO	GR	24/07/2013
1	LUCERO	PRE	26	ENTERO	GR	31/07/2013
1	UBEROSO	PRE	16	ENTERO	GR	08/08/2013
1	BOLAÑO	PRE	9	ENTERO	GR	09/08/2013
1	CUSCUS	PRE	17	ENTERO	GR	13/08/2013
1	TEMPUL	PRE	15	ENTERO	GR	14/08/2013
1	CELO	PRE	10	ENTERO	GR	19/08/2013
1	VENERO	PRE	13	ENTERO	GR	22/08/2013
2	ZEPELIN	PRE	13	CASTRADO	GR	23/04/2014
2	EQUIAS	SILLA FRANCES	20	CASTRADO	VALDECUESTRE	27/03/2013
2	OBESO	PRE	20	CASTRADO	GR	09/04/2014
2	TORNADO	CRUZADO	7	CASTRADO	VALDECUESTRE	21/11/2012
2	LUCERO	CRUZADO	14	CASTRADO	VALDECUESTRE	16/01/2013
2	NIZAR	ÁRABE	9	CASTRADO	VALDECUESTRE	23/01/2013
2	NICO	CRUZADO	10	CASTRADO	VALDECUESTRE	30/01/2013
2	BLAK	CRUZADO	12	CASTRADO	VALDECUESTRE	13/02/2013
2	CHICUELO	PRE	13	CASTRADO	VALDECUESTRE	20/02/2013
2	ZACARIAS	CRUZADO	10	CASTRADO	VALDECUESTRE	06/03/2013

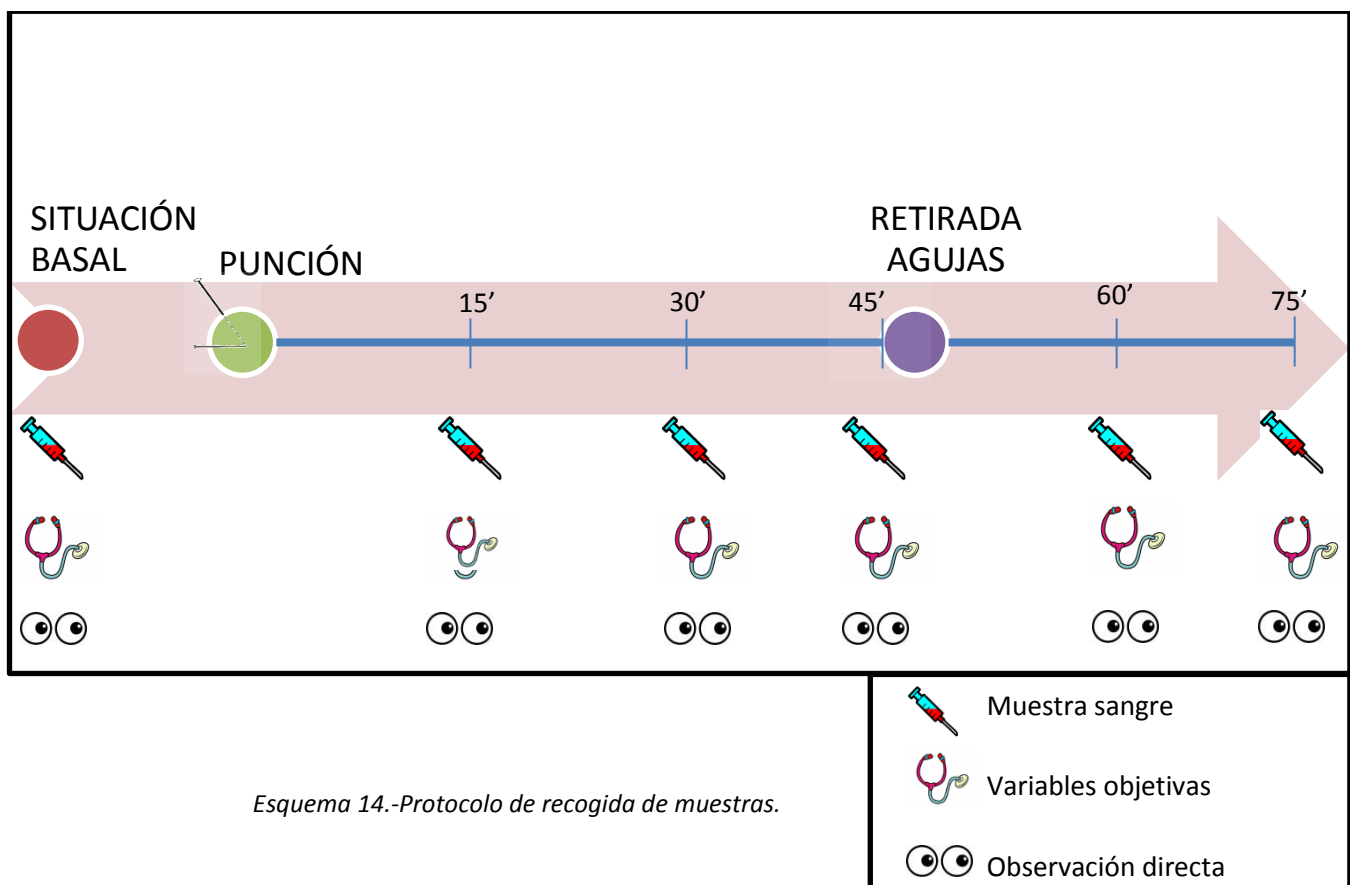
Esquema 13.-Registro de ejemplares y características.

Para la realización de nuestro estudio se recogieron las siguientes muestras:

- Recogida de muestras sanguíneas.
- Registro y análisis de variables objetivas cuantitativas (se describirán más adelante en el texto).
- Recogida de variables subjetivas cualitativas por observación directa (se describirán más adelante en el texto).

Para la recogida de muestras y el registro y recogida de variables se ha seguido el mismo protocolo de periodos de tiempo, que son los siguientes:

- Primera: En Situación basal tras haber colocado el catéter y con el ejemplar tranquilo. (Momento 0).
- Segunda: 15 minutos después de la colocación de las agujas de acupuntura. (Momento 15).
- Tercera: 15 minutos después de la anterior medición. (Momento 30).
- Cuarta: 15 minutos después de la anterior medición. Tras esta medición se retiran las agujas de acupuntura. (Momento 45).
- Quinta: 15 minutos después de la retirada de las agujas. (Momento 60).
- Sexta: 15 minutos después de la anterior medición. (Momento 75).



Antes de realizar el estudio se informó verbalmente y por escrito a las entidades implicadas obteniendo su permiso para la realización de las técnicas planteadas.

Tipos de punción y realización de las punciones:

Antes de la punción es indispensable realizar una correcta desinfección de la piel, para esto usaremos Alcohol reforzado al 96% para uso tópico y piel sana, de los Laboratorios Betamadrileño, S.L., empaparemos la zona de la punción con este desinfectante y frotaremos con una gasa para limpiar el pelo.

Para realizar la punción usaremos una aguja de acupuntura desechable de acero inoxidable de 0,30 X 40 mm (1,5cun) sin guía, con el mango bañado en plata y con cabeza redonda de la marca Ener-qi, después de revisar que no esté torcida, con el cuerpo corroído o con la punta curvada o roma.



*Imagen 19.- Agujas de acupuntura usadas en el estudio. Fuente: propia*

El ángulo y la profundidad de la punción depende de las características topográficas del punto elegido y de sus estructuras diana.

Existen determinadas técnicas de aplicación de la aguja dependiendo de si queremos tonificar el punto o dispersarlo.

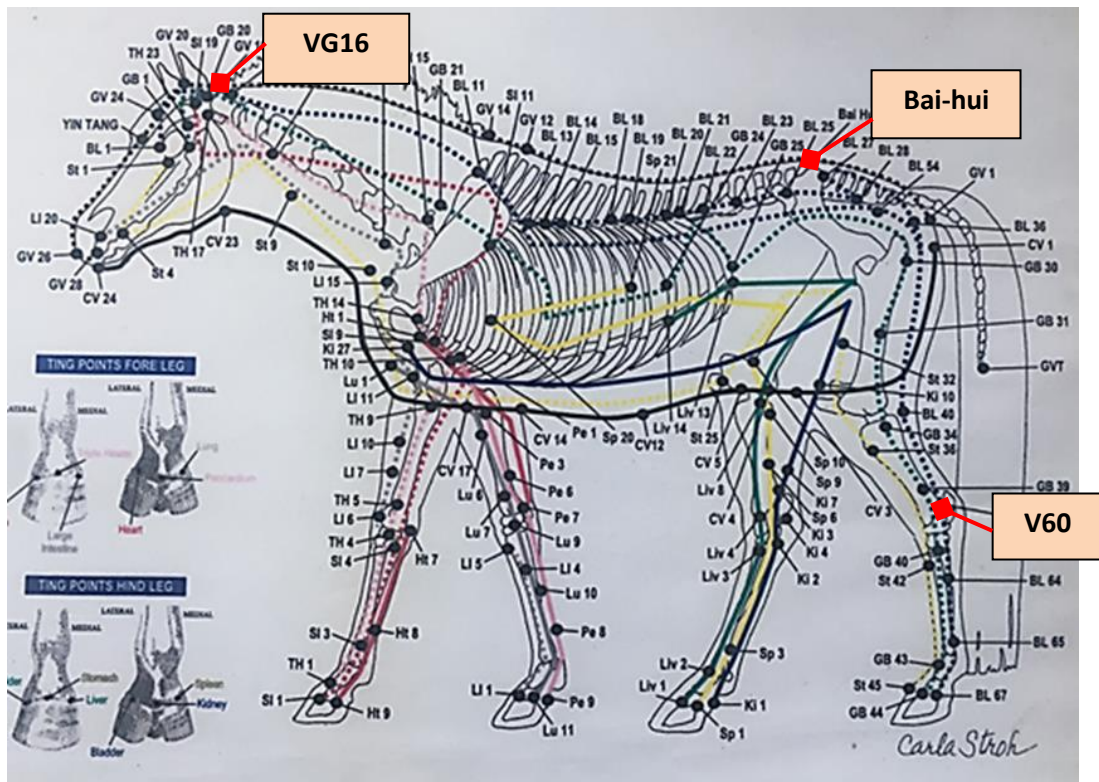


Imagen 20.- Mapa de los meridianos en el caballo. Fuente: <https://www.acuprime.com/product/equine-acupressure-meridian-chart/>

Los puntos propuestos para puncionar son:

- Bai- hui animal, la puerta del cielo o el punto de las 100 reuniones:* es un punto extra en caballos respecto al meridiano de Dumai en el humano. Está localizado en la línea media dorsal, en el espacio lumbosacro entre L6 y S1. También es conocido como GV03-1 o 2VGbis (en los textos franceses) (175). En el espacio lumbosacro no hay procesos espinosos ni ligamento interespinoso. Este punto alivia el estrés, abre la mente y le otorga claridad.

Es conocido por sus cualidades ansiolíticas, tranquilizadoras y sedantes (176, 177, 178,179) y por su capacidad de someter o descender la energía Yang del cuerpo.

Tipo de punción: perpendicular.

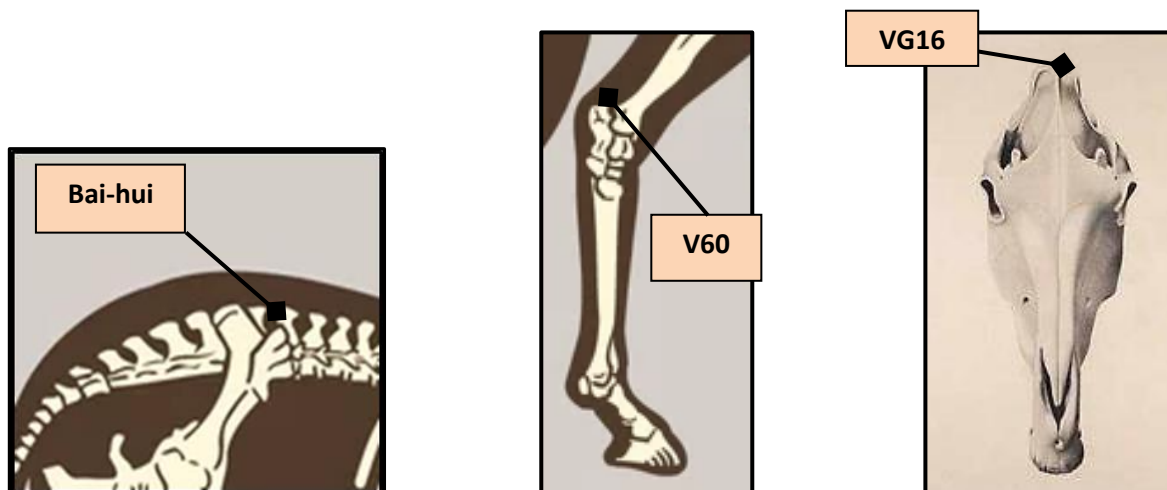
Profundidad de la punción: 3- 3'5 cm.

Técnica de aplicación: estimulación.

- *Vaso Gobernador o Dumai 16 (VG16), Fengfu o Palacio del Viento*: se encuentra en la línea media dorsal debajo de la protuberancia occipital, en una pequeña depresión a 1 cun por encima de la línea occipital. En la articulación atlanto-occipital.  
Es un punto psicamental que dispersa el viento y calma el Shen (mente). Muy usado en problemas de comportamiento.  
Tipo de punción: perpendicular.  
Profundidad de la punción: 2 cm.  
Técnica de aplicación: estimulación.
- *Vejiga 60 (V60), Kun Lun o Montaña Kun Lun*: situado en la cara lateral del tarso, proximal al calcáneo entre la tibia y el tendón del gastrocnemio.  
Su estimulación está especialmente aconsejada cuando se tiene cualquier tipo de dolor, siendo de este modo un punto fundamentalmente analgésico.  
Como lo que queremos es estimular este punto y estamos trabajando con caballos machos (energía Yang), realizamos la punción en el lado derecho que es el lado más Yang (180).  
Tipo de punción: perpendicular.  
Profundidad de la punción: 2-3 cm.  
Técnica de aplicación: estimulación.

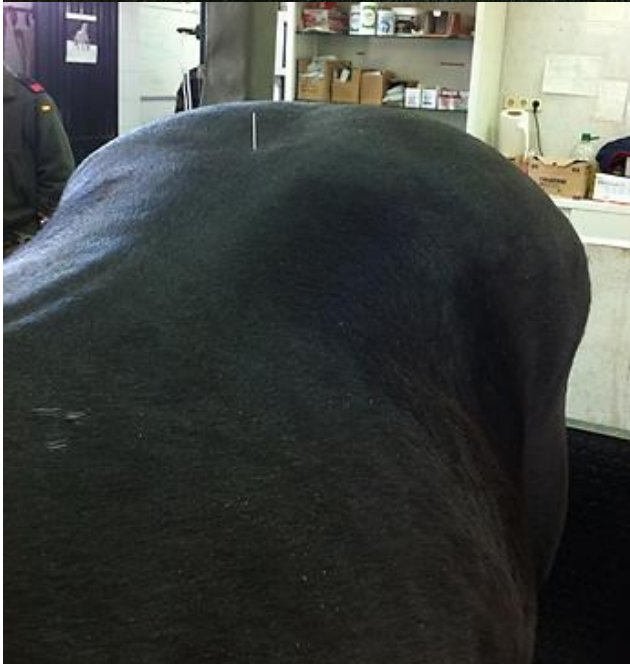
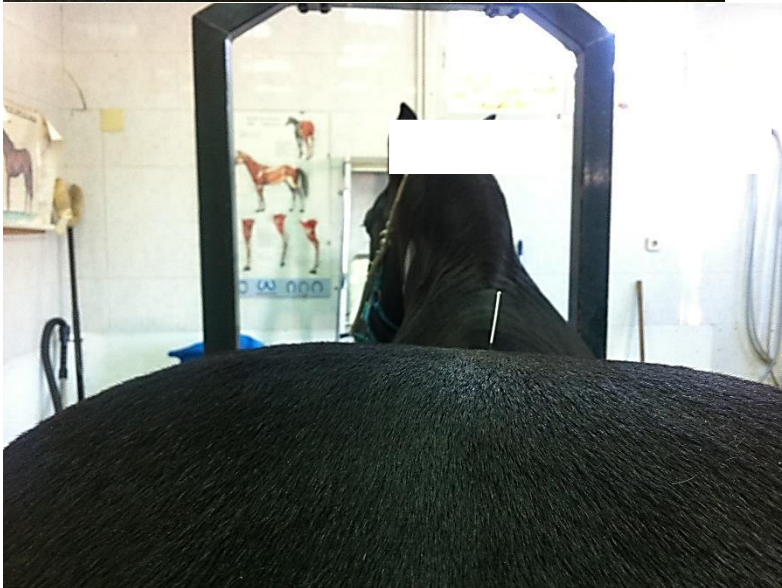


Imagen 21.-Localización de los puntos de acupuntura seleccionados. Fuente: propia.



Imágene 22 .-Puntos seleccionados para la punción nº3. Fuente:

<http://www.arcadja.com/auctions/en/bohmer/artist/326134/>



*Imagen 23.-Punción Bai-hui.*

*Fuente: propia*

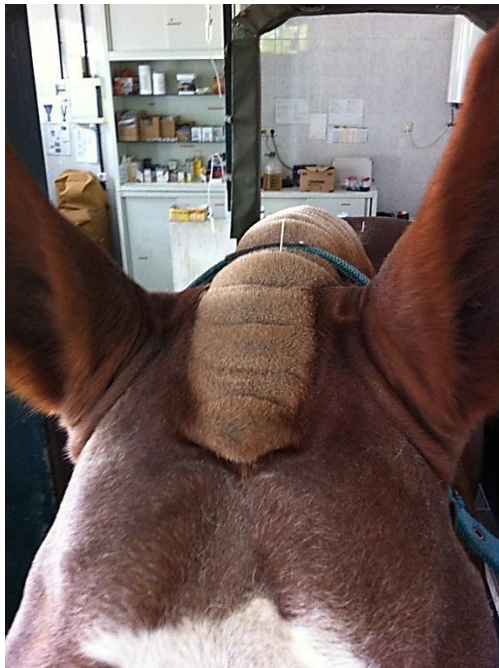
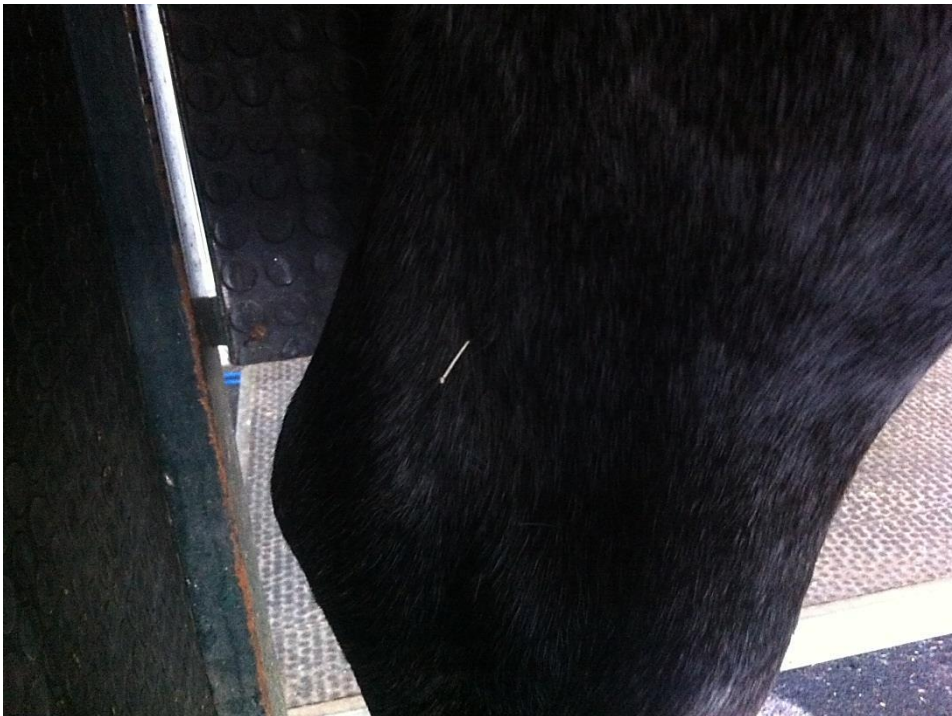


Imagen 24.-Punción VG16. Fuente:

*propia*



*Imagen 25.-Punción V60 (dcho.). Fuente: propia*

## **B. Registro y medida de variables objetivas cuantitativas**

La recogida de muestras sanguíneas se ha realizado mediante la colocación de un catéter intravenoso en la vena yugular para reducir el nivel de estrés que puede generar la venipunción repetida (181).

Para la realización del protocolo de recogida de las muestras del estudio, es necesario elegir un sitio tranquilo y con las menores distracciones posibles. En el caso de la Hípica Valdecuestre se realizó la punción y el registro de las diferentes variables en el propio box del caballo, atado con una cabezada de cuadra a los barrotes de separación del box contiguo, la longitud del ramal era la suficiente para el caballo tuviera movimiento libre de la cabeza pero sin llegar a la paja del suelo.

En las instalaciones de la Guardia Real, teniendo en cuenta el movimiento de personal y soldados que hay, se decidió realizar la punción y la recogida de muestras sanguíneas y el registro de variables en el potrero de la enfermería, siendo avisado el personal, previamente, para evitar el paso de personas. El animal estaba atado con una cabezada de cuadra y un ramal a la columna lateral del potrero. Podía realizar movimientos libres de cabeza sin llegar al suelo.



*Imagen 26.-A la izquierda box de la Hípica Valdecuestre,*

*A la derecha potrero de la Instalación de la Guardia Real.*

*Fuente: propia.*

Las variables objetivas que se han registrado y cuantificado son:

- **Frecuencia cardiaca:** medida con un tensiómetro oscilométrico digital de la marca OMRON, modelo M6 recomendado y validado por la British Hypertension Society (BHS), la Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI) y la European Society of Hypertension (ESH). Este modelo es un tensiómetro completamente automático cuyo funcionamiento se basa en el principio oscilométrico. Mide la presión arterial y el pulso gracias al sistema “IntelliSense” que permite un inflado controlado que no requiere ajustar previamente la presión ni volver a inflar. Usamos el manguito de 14 cm de ancho (182, 183, 184, 185,186). La medición se realiza en la arteria coccígea media, colocando el manguito lo más cerca posible de la raíz de la cola (maslo) con la marca indicadora del manguito en correspondencia con la arteria citada (187).

Dicha marca hace que el detector electrónico de oscilaciones quede lo más en contacto posible con la arteria. Durante el registro la cola debe mantenerse horizontal con relación al suelo y libre de movimiento.

Una vez colocado el manguito y ajustado como corresponde, se presiona el botón de START, si el equipo detecta que todo está correcto comienza con la fase de inflado y a partir de este momento el procedimiento es automático.

La Frecuencia cardiaca normal en un caballo en reposo es entre 28-50 latidos por minuto.

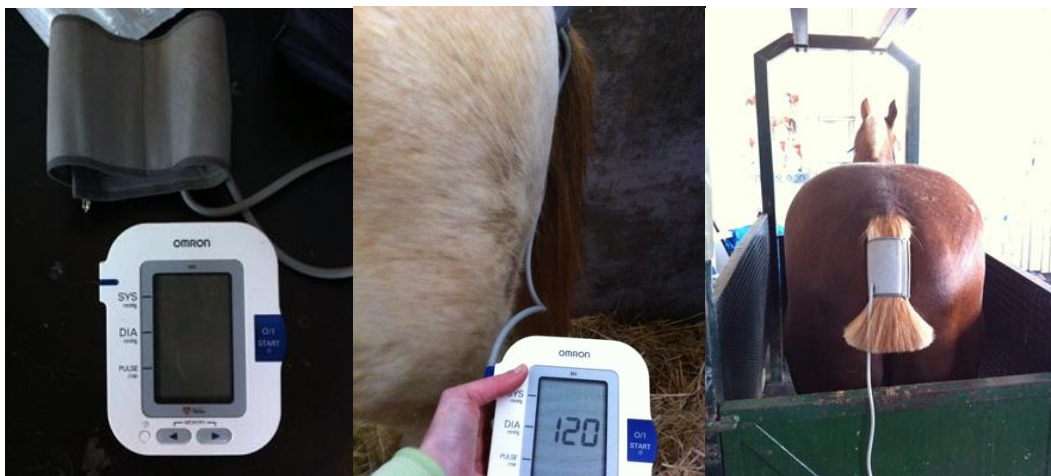


Imagen 27.-Medición de Frecuencia cardiaca y presión arterial con Tensiómetro oscilométrico digital. Fuente: propia.

- **Frecuencia respiratoria:** se medirá por observación directa de la región del flanco y/u ollares durante 60 segundos. La frecuencia respiratoria normal de un caballo en reposo está entre 10-14 respiraciones por minuto.
- **Presiones arteriales sistólica y diastólica:** ambas presiones se han medido con un tensiómetro oscilométrico digital de la marca OMRON, modelo M6 recomendado y validado por la British Hypertension Society (BHS), la Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI) y la European Society of Hypertension (ESH). La medición se realizó mediante el procedimiento ya descrito anteriormente.

La presión arterial sistólica en un caballo es de  $116,54 \pm 8,97$  mmHg.

La presión arterial diastólica en un caballo es de  $64,74 \pm 12,94$  mmHg (187).

- **Temperatura rectal:** medida en el recto con un Termómetro digital marca SPAINCARE con apagado automático. En la especie equina se considera normal una temperatura entre  $37,9^{\circ}\text{C}$ - $38,5^{\circ}\text{C}$ .

VARIABLES	C.N.	S.B.	Sangre	PUNCIÓN					RETRADA AGUJA				
				15min	Sangre	30min	Sangre	45min	Sangre	60min	Sangre	75min	Sangre
Frec. Cardíaca.	28-50 Lat/min												
P. Sistólica.	$116,54 \pm 8,97$ mmHg												
P. Diastólica.	$64,74 \pm 12,94$ mmHg												
Frec. respiratoria	10-14 Resp/min												
Tª corporal	$37,9$ - $38,5^{\circ}\text{C}$												
Constricción pupilar	1=si 2=no												
Activación genital	1=si 2=no												

Imagen 28.-Hoja de recogida de variables objetivas cuantitativas y cualitativas. Fuente: propia.

**C. Recogida de variables cualitativas mediante observación directa**

Las variables cualitativas recogidas mediante observación directa por 2 observadores, son las siguientes:

- Constricción pupilar.
- Activación urogenital e intestinal.
- Signos que indiquen relajación del ejemplar:
  - Posición de la cabeza.
  - Posición de las orejas.
  - Gesto de los ollares, boca y párpado (188).
  - Posición y movimiento de manos y pies (189).
  - Movimiento de la cola.

OBSERVACIÓN DIRECTA SIGNOS DE RELAJACIÓN

Observador1:.....

	S.B.	15 MINUTOS	30 MINUTOS	45 MINUTOS	60 MINUTOS	75 MINUTOS
CABEZA	Baja Normal	Baja Normal	Baja Normal	Baja Normal	Baja Normal	Baja Normal
OREJAS	Atentas a algo Relajadas Replegadas	Atentas a algo Relajadas Replegadas	Atentas a algo Relajadas Replegadas	Atentas a algo Relajadas Replegadas	Atentas a algo Relajadas Replegadas	Atentas a algo Relajadas Replegadas
CARA	Boca relajada Boca tensa Ollares tensos Ollares relajados Párpado caído Ojo tenso	Boca relajada Boca tensa Ollares tensos Ollares relajados Párpado caído Ojo tenso	Boca relajada Boca tensa Ollares tensos Ollares relajados Párpado caído Ojo tenso	Boca relajada Boca tensa Ollares tensos Ollares relajados Párpado caído Ojo tenso	Boca relajada Boca tensa Ollares tensos Ollares relajados Párpado caído Ojo tenso	Boca relajada Boca tensa Ollares tensos Ollares relajados Párpado caído Ojo tenso
MANOS	Quietas Rasca Inquieto	Quietas Rasca Inquieto	Quietas Rasca Inquieto	Quietas Rasca Inquieto	Quietas Rasca Inquieto	Quietas Rasca Inquieto
PIES	Postura relajada Inquieto	Postura relajada Inquieto	Postura relajada Inquieto	Postura relajada Inquieto	Postura relajada Inquieto	Postura relajada Inquieto
COLA	Elevada Baja Inquieta	Elevada Baja Inquieta	Elevada Baja Inquieta	Elevada Baja Inquieta	Elevada Baja Inquieta	Elevada Baja Inquieta
GENERAL	Relajado  SI/NO	Relajado  SI/NO	Relajado  SI/NO	Relajado  SI/NO	Relajado  SI/NO	Relajado  SI/NO

Imagen 29.-Hoja de recogida de variables cualitativas por observación directa. Fuente: propia.

#### D. Procesado de las muestras sanguíneas

Las muestras de sangre se mantuvieron a 4°C desde su recogida hasta su procesamiento 2 horas después; durante este tiempo los tubos Vacuette Rojos de 9ml con activador de coagulación, con la sangre recogida se mantuvieron en posición vertical, ligeramente inclinados para facilitar la separación del suero del coágulo.

Los tubos se centrifugaron durante 30 minutos a 4 °C y 1.200 x g en una centrífuga Hettich Universal 320 R (Hettich, Tuttingen, Alemania), para separar el suero. El suero se pipeteó en tubos Eppendorf de 1,5 ml. Cada tubo se identificó y etiquetó con el nombre del animal y fecha de recogida y el periodo de tiempo al que correspondía.

El suero se etiquetó con la identificación de cada animal, almacenó y conservó a -30 °C hasta su posterior análisis.



Imagen 30.-Diferentes fases del procesado de las muestras. Fuente: propia.

## **E. Medida de las concentraciones hormonales séricas**

Las concentraciones hormonales séricas se determinaron mediante enzimoimmunoanálisis (EIA), mediante los protocolos que a continuación se describen.

### **E 1. Determinación de las concentraciones séricas de cortisol mediante EIA de competición**

#### Fundamento de la técnica EIA de competición:

La técnica EIA de competición, es un método inmunológico de determinación hormonal que, se basa en la competición que se establece entre la hormona sin marcar (problema o estándar) y la hormona marcada con una enzima, por unirse a los sitios de unión de un anticuerpo que se ha fijado previamente a una fase sólida (microplaca de poliestireno). A continuación se mide la fracción unida al anticuerpo mediante la reacción del sustrato con la enzima, lo cual se traduce en una reacción de oxidación de un cromógeno que lleva incorporado el sustrato, produciéndose una reacción coloreada. Posteriormente se lee la absorbancia del color desarrollado, el cual será inversamente proporcional a la cantidad de hormona marcada que se ha unido al anticuerpo.

#### Material:

- Microplacas de poliestireno de 96 pocillos con fondo plano y con una capacidad de 350  $\mu$ l por pocillo (Greiner Bio-one).
- Puntas desechables, para pipetas Eppendorf, de 10-200  $\mu$ l y de 100-1000  $\mu$ l (Comfortips, Eppendorf).
- Puntas de pipeta multicanal, 25-250  $\mu$ l (Costar).
- Pipetas automáticas Eppendorf (Merck) de 10-100  $\mu$ l y 100-1000  $\mu$ l.
- Pipeta multicanal de ocho canales, de 50-250  $\mu$ l (Costar).
- Agitador (Vórtex) Reax 2.000 (Heindolph).
- Selladores adhesivos de acetato para placas (ICN Biomedical Inc.).
- Tubos de ensayo de cristal de 16 x 100 mm (Corning).
- Lector automático de placas (Bio-Tek Instruments).

Reactivos:

- Anticuerpos policlonales anti-cortisol (C1098), obtenidos y caracterizados en el Departamento de Fisiología Animal (Facultad de Veterinaria. UCM)
- Conjugados hormona-peroxidasa para cortisol (Cortisol 3CMO-HRP), preparados y caracterizados en el Departamento de Fisiología Animal (Facultad de Veterinaria, UCM). (Cortisol 3CMO: Steraloids Inc. N.H. USA; Peroxidasa de rábano picante: Sigma-Aldrich, España).
- Estándar de cortisol (Steraloids Inc., N.H. USA).
- Tetrametilbencidina Substrato K-blue: TMB (Neogen Inc. USA).

Soluciones Tampón:

Soluciones tampón:

- Solución de tapizado, Carbonato-Bicarbonato: pH: 9,6.

Para 1.000 ml de solución:

$\text{Na}_2\text{CO}_3$ : 1,59 g.

$\text{NaHCO}_3$ : 2,93 g.

Conservar a 4°C.

- Solución tampón EIA: pH: 7,0.

Para 1.000 ml de solución:

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : 5,421 g.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ : 8,662 g.

$\text{NaCl}$ : 8,7 g.

Albúmina sérica bovina: 1,0 g.

Conservar a 4°C.

- Solución de lavado: Solución concentrada.

Para 1.000 ml de solución:

$\text{NaCl}$  1,5 M: 87,66 g.

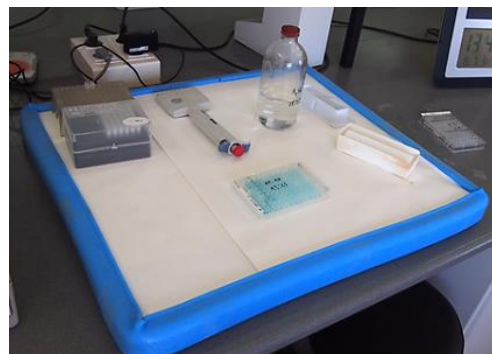


Imagen 31.-Materiales utilizados. Fuente

*propia.*

Tween-20 0,5%: 5 ml.

Conservar a temperatura ambiente.

Se utiliza diluida en una proporción 1:10.

– Solución de frenado: Ácido Sulfúrico al 10%.

Para 500 ml de solución:

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 50 ml.

Condiciones del ensayo:

Fase sólida: microplacas de poliestireno de 96 pocillos y fondo plano con selladores de acetato.

Condiciones de incubación:

- Inmovilización de los anticuerpos a la fase sólida: 16 horas a 4°C.
- Reacción de competición: 2 horas a temperatura ambiente.
- Hidrólisis del sustrato: 15 minutos, en oscuridad, a temperatura ambiente.



*Imagen 32.-Placas y reactivos. Fuente:*

*propia.*

Desarrollo de la técnica EIA de competición:

Comprende las siguientes etapas:

Tratamiento de las muestras:

Para separar el cortisol unido a su globulina transportadora, se realiza una extracción previa al análisis. A 100 µl de suero se les añade 1 ml de etanol absoluto (Panreac, España). Se mezcla con el vórtex y se centrifuga a 1.000 x g durante 20 minutos. Se recupera el sobrenadante y 100 µl de extracto se evaporan y solubilizan en 150 µl de solución de conjugado.

Tapizado de los Anticuerpos a la Fase Sólida:

Diluimos el anticuerpo en tampón carbonato/bicarbonato hasta llegar a la dilución correspondiente (1/4.000). A continuación se tapizan los pocillos con 100 µl de la dilución excepto el pocillo A1 que se deja como blanco.

Se sellan las placas y se incuban a 4 °C durante 16 horas.

Seguidamente, la placa se lava tres veces con solución de lavado (200 µl por pocillo) para eliminar el exceso de anticuerpo que no se ha fijado a la placa y se seca enérgicamente mediante volteo, en papel de filtro.

Reacción de Competición:

La reacción se produce entre la hormona libre, ya sea de la muestra problema o estándar, y la hormona conjugada a la enzima.

Se diluyen los conjugados en solución tampón EIA hasta 1/40.000. A continuación se proceden a diluir los extractos de las muestras problema en 150 µl de la dilución de conjugado y se homogeniza cuidadosamente mediante un vórtex. Se utilizan 50 µl de esta mezcla, junto con 50 µl de tampón EIA para tapizar los pocillos de la placa de poliestireno.

La curva estándar cubre un rango de 1 pg/pocillo a 1ng/pocillo. Se preparan 10 estándares que se diluyen en 500 µl de la solución de conjugado. Se utilizan 50 µl de esta mezcla junto con 50 µl de tampón EIA para tapizar los pocillos de la placa de poliestireno.

Las muestras estándar y problema se determinan por duplicado.

Las placas se sellan, incubándose durante un período de dos horas a temperatura ambiente.

A continuación se vuelca el contenido de las placas y se realiza un lavado con 200  $\mu$ l de solución de lavado por pocillo (tres veces) con el fin de eliminar el exceso de reactivos.

En todos los pocillos de la placa se añaden 100  $\mu$ l de TMB, se sella y se incuba 15 minutos a temperatura ambiente.

Tras el tiempo necesario para que se desarrolle el color del cromógeno, se frena la reacción añadiendo 100  $\mu$ l de solución de frenado (ácido sulfúrico al 10%).

#### Lectura de las Placas:

Una vez frenada la reacción del sustrato, se procede a la lectura de la densidad óptica del color desarrollado. Para ello empleamos un lector automático EIA (Bio-Tek), el cual mediante filtros de 450 y 600 nm, realiza una lectura bicromática eliminando el color producido por una posible reacción inespecífica de fondo.

#### Procesado de los Resultados:

Los resultados obtenidos se procesan mediante un software especial (ELISA AIDS, Eurogenetics). Los resultados hormonales se expresan en ng/ml.

#### Parámetros de validación de la técnica EIA de cortisol en suero equino:

- Límite de detección: 30 pg/ml.
- Porcentaje de recuperación (recovery): 95%.
- CV intra-análisis: concentraciones altas de cortisol: 5,7%. Concentraciones bajas de cortisol: 6,63%.
- CV inter-análisis: concentraciones altas de cortisol: 8,92%. Concentraciones bajas de cortisol: 9,93%.
- Reacciones cruzadas del anticuerpo policlonal C1098:
  - Cortisol: 100%
  - Prednisolona: 15,71%
  - Prednisona: 18,9

Cortisona: 10,8

Corticosterona: 6,4

11-Deoxycortisol: 40,31

21-Deoxycortisol: 5,31

Dexametasona: < 0,1

## **E2. Determinación de las concentraciones de hormona adrenocorticotropa (ACTH) en suero equino**

La ACTH se determinó mediante una técnica EIA de competición estreptavidina-biotina (Phoenix peptide: ACTH (Human) Fluorescent Immunoassay Kit (FEK-001-01)) validada para muestras de suero equino, debido a la homología que presenta la ACTH equina con la ACTH humana.

Principio de la técnica: la microplaca se tapiza con un anticuerpo secundario (anti-IGg de conejo) capaz de unirse al fragmento Fc del anticuerpo primario (anticuerpo anti-ACTH producido en conejo), de tal forma que, al añadir la muestra a analizar, el fragmento Fab del anticuerpo, es capaz de reconocer la ACTH. En un segundo paso se añaden las muestras/ los estándares/los controles en distintos pocillos de la microplaca junto con una cantidad fija de ACTH biotinilada, que competirá con la ACTH sin marcar por unirse al anticuerpo. Posteriormente se añade el conjugado estreptavidina-peroxidasa, que se unirá a la ACTH biotinilada unida al anticuerpo primario de la microplaca. Esta unión se pone de manifiesto al añadir la solución de sustrato desarrollándose una fluorescencia cuya intensidad será inversamente proporcional a la concentración de ACTH que contenga la muestra.

### Reactivos:

1. Solución tampón de ensayo concentrada (20x).
2. Inmunoplaca de 96 pocillos tapizada con el anticuerpo secundario.
3. Anticuerpo primario (anti-ACTH producido en conejo).
4. Solución Stock de estándar de ACTH. Los estándares se preparan de la siguiente manera: partiendo de la solución stock de ACTH que presenta una concentración de 1.000 ng/ml se hacen diluciones seriadas tomando 100 µl de solución stock y añadiendo 900µl de solución de ensayo 1X y así sucesivamente, hasta llegar al

estándar de 1 pg/ml. Se preparan los siguientes estándares: 100 ng/ml; 10 ng/ml; 1 ng/ml; 100 pg/ml; 10 pg/ml y 1 pg/ml.

5. ACTH biotinilada.
6. Solución de sustrato. Catalog no. FEK-Substrate.
7. Control positivo.
8. Solución estabilizadora de peróxido.
9. Solución de frenado.

#### Procedimiento de la técnica:

1. Añadir 50 µl de los estándares, controles y muestras, por duplicado a los pocillos de la microplaca junto con 25 µl del anticuerpo primario.
2. Incubar durante toda la noche a 4°C.
3. Añadir 25 µl de ACTH biotinilada a todos los pocillos.
4. Incubar a temperatura ambiente durante una hora y media.
5. Realizar 4 lavados con 350 µl de solución de ensayo 1X.
6. Añadir 100 µl del conjugado estreptavidina-peroxidasa a todos los pocillos.
7. Incubar a temperatura ambiente durante una hora.
8. Realizar 4 lavados con 350 µl de solución de ensayo 1X.
9. Dispensar 100 µl de sustrato-cromógeno en cada pocillo.
10. Incubar durante 15-20 minutos a temperatura ambiente.
11. Frenado de la reacción añadiendo 100 µl de la solución de frenado a cada pocillo.
12. Medir la fluorescencia en un lector de microplacas, expresándola en unidades de fluorescencia relativas. La excitación y la emisión máximas de la solución del sustrato se miden a 325 y 420 nm, respectivamente.

#### Procesado de los resultados:

El procesado de los resultados obtenidos en los análisis hormonales, se realizó con la ayuda del programa informático diseñado especialmente para ello en el Departamento de Informática de la Universidad de California (Davis, USA).

En este caso se calculó la curva patrón enfrentando las concentraciones estándar de cada una de las hormonas con sus respectivas intensidades fluorescentes.

A continuación, el programa calculó las concentraciones de las muestras problema tomando como referencia las curvas patrón. La curva estándar muestra una relación inversamente proporcional entre las concentraciones de ACTH y las correspondientes intensidades de fluorescencia. Las concentraciones de ACTH se expresan en ng/ml.

Parámetros de validación de la técnica EIA para la determinación de ACTH en suero equino:

Sensibilidad: Límite de detección: 9,6 pg/ml.

Exactitud: porcentaje medio de recuperación (recovery):

Concentraciones conocidas de ACTH añadidas a un pool de muestras equinas, dieron como resultado un porcentaje de recuperación del 100,5%.

Precisión: CV intra-análisis: < 10%.

CV inter-análisis: < 15%.

Especificidad: reactividad cruzada del anticuerpo de ACTH (% RC):

Compuesto	% RC ACTH
ACTH humana	100
ACTH rata	100
Beta-endorfina	1
CRF	0
Alfa-MSH	0
Meta-encefalina	0
Alfa-ANP	0

Linealidad: las diluciones seriadas de un pool de muestras de suero equino (1:25; 1:5,1:10; 1:20; 1:40; 1:80 y 1:160) dieron como resultado que la técnica es lineal en el rango 14.7 a 1828 pg/ml.

**E3. Determinación de las concentraciones de Epinefrina, Norepinefrina y Dopamina en suero equino mediante EIA de competición**

Tipo de ensayo: EIA de competición con extracción previa de la muestra. Técnica 3-CA<sub>t</sub> EIA (Demeditec, Diagnostics GmbH, Germany) que se validó para la especie equina.

Reactivos:

Placas de Poliestireno para la extracción/acilación de las muestras.

Placas EIA de poliestireno de 96 pocillos con una cantidad fija de epinefrina, norepinefrina o dopamina.

Solución tampón de acilación.

Reactivo de Acilación.

Solución Tampón de extracción.

Solución enzimática: mezcla de la enzima COMT y la coenzima S-adenosyl-L-metionina.

Solución de lavado.

Solución tampón de ensayo (assay buffer).

Solución de HCl 0,025 M.

Anticuerpos: anti- epinefrina, anti- norepinefrina y anti-dopamina producidos en conejo.

Conjugado: IgG anti-conejo unida a peroxidasa.

Rango de las curvas estándar:

Epinefrina: 0,0; 1,0; 4,0; 15,0; 50,0; 200,0 ng/ml.

Norepinefrina: 0,0; 5,0; 20,0; 75,0; 250,0; 1000,0 ng/ml.

Dopamina: 0,0; 10,0; 40,0; 150,0; 500,0; 2.000,0 pg/ml.

Controles:

Epinefrina: control 1: 8,0 ng/ml; control 2: 30,0 ng/ml.

Norepinefrina: control 1: 40,0 ng/ml; control 2: 150,0 ng/ml.

Dopamina: control 1: 80,0 pg/ml; control 2: 0,0 pg/ml.

Sustrato-cromógeno: Tetrametilbencidina (TMB).

Solución de frenado: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 0,25M.

Principio de la técnica: las catecolaminas son extraídas previamente del suero mediante la utilización de un gel de afinidad específico (cis-diol specific affinity gel), aciladas y derivatizadas enzimáticamente. La técnica EIA de competición se basa en la competición que se establece entre las catecolaminas de la muestra y las catecolaminas fijadas a la fase sólida (microplaca de EIA), por unirse a los sitios de unión de un anticuerpo específico, para cada

una de las catecolaminas analizadas, producido en conejo. El complejo catecolamina-anticuerpo unido a la fase sólida es detectado por la anti-IgG peroxidasa y la reacción enzimática sustrato/peroxidasa se mide posteriormente a 450 nm. El color desarrollado será inversamente proporcional a la concentración de catecolaminas contenida en las muestras.

Desarrollo de las técnicas:

1º. Extracción de las catecolaminas de las muestras: Acilación.

1. Pipetear 10 µl de estándares y controles y 300 µl de muestra en la placa de extracción.
2. Añadir 250 µl de agua destilada en los pocillos de estándares y controles.
3. Añadir 50 µl de solución tampón de ensayo en todos los pocillos.
4. Añadir 50 µl de Solución Tampón de extracción en todos los pocillos.
5. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
6. Volcar la placa y lavar con 1 ml de solución de lavado en todos los pocillos.
7. Incubar 5 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
8. Repetir el paso 7 y dejar la placa vacía.
9. Añadir 150 µl de solución tampón de acilación en todos los pocillos.
10. Añadir 25 µl de reactivo de acilación en todos los pocillos.
11. Incubar 15 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
12. Volcar la placa y añadir 1ml de solución de lavado en todos los pocillos.
13. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
14. Volcar la placa.
15. Añadir 175 µl de HCl en todos los pocillos.
16. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente, en agitación. NO TIRAR EL SOBRENADANTE.

2º Determinación de Epinefrina.

1. Añadir 25 µl de solución enzimática a todos los pocillos.
2. Añadir 100 µl de estándares, controles y muestras (extraídas).
3. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
4. Añadir 50 µl de anticuerpo anti- Epinefrina a todos los pocillos.
5. Incubar 2 horas a temperatura ambiente, en agitación.
6. Volcar la placa y lavar 3 veces con 300µl de solución de lavado.
7. Añadir 100 µl de conjugado a todos los pocillos.

8. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
9. Volcar la placa y lavar 3 veces con 300 µl de solución de lavado.
10. Añadir 100 µl de sustrato.
11. Incubar 25±5 minutos a temperatura ambiente en agitación y oscuridad.
12. Añadir 100 µl de solución de frenado.
13. Lectura de la microplaca a 450 nm.

### 3° Determinación de Norepinefrina

1. Añadir 25 µl de solución enzimática a todos los pocillos de la microplaca.
2. Añadir 20 µl de estándares, controles y muestras (extraídas).
3. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
4. Añadir 50 µl de anticuerpo anti- norepinefrina a todos los pocillos.
5. Incubar 2 horas a temperatura ambiente, en agitación.
6. Volcar la placa y lavar 3 veces con 300 µl de solución de lavado.
7. Añadir 100 µl de conjugado a todos los pocillos.
8. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
9. Volcar la placa y lavar 3 veces con 300 µl de solución de lavado.
10. Añadir 100 µl de sustrato.
11. Incubar 25±5 minutos a temperatura ambiente, en agitación y oscuridad.
12. Añadir 100 µl de solución de frenado.
13. Lectura de la microplaca a 450 nm.

### 4° Determinación de Dopamina.

1. Añadir 25 µl de solución enzimática a todos los pocillos de la microplaca.
2. Añadir 25 µl de estándares y controles (extraídos).
3. Añadir 50 µl de muestra (extraída).
4. Añadir 25 µl de HCl a estándares y controles.
5. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
6. Añadir 50 µl de anticuerpo anti-dopamina a todos los pocillos.
7. Incubar 2 horas a temperatura ambiente, en agitación.
8. Volcar la placa y lavar 3 veces con 300 µl de solución de lavado.
9. Añadir 100 µl de conjugado a todos los pocillos.

10. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente, en agitación.
11. Volcar la placa y lavar 3 veces con 300 µl de solución de lavado.
12. Añadir 100 µl de sustrato.
13. Incubar 25±5 minutos a temperatura ambiente, en agitación y oscuridad.
14. Añadir 100 µl de solución de frenado.
15. Lectura de la microplaca a 450 nm.

#### Procesado de resultados:

El procesado de los resultados obtenidos en los análisis hormonales, se realizó con la ayuda del programa informático diseñado especialmente para ello en el Departamento de Informática de la Universidad de California (Davis, USA).

En este caso se calculó la curva patrón enfrentando las concentraciones estándar de cada una de las hormonas con sus respectivas densidades ópticas.

A continuación, el programa calculó las concentraciones de las muestras problema tomando como referencia las curvas patrón. Para expresar estas concentraciones en las unidades correctas fue necesaria la introducción de un factor de corrección en función de la dilución utilizada. Las concentraciones de epinefrina y norepinefrina se expresan en ng/ml y las de dopamina en ng/ml.

#### Parámetros de validación de las técnicas EIA para la determinación de epinefrina, norepinefrina y dopamina en suero equino:

Sensibilidad: Límite de detección: Epinefrina: 10 pg/ml; norepinefrina: 50 pg/ml; dopamina 5 pg/ml.

Exactitud: porcentaje medio de recuperación (recovery): Epinefrina: 92,0%; norepinefrina: 97,0% y dopamina: 90,0%.

Precisión: CV intra-análisis:

- Epinefrina: concentraciones bajas: 15,0%. Concentraciones altas: 6,9 %.
- Norepinefrina: concentraciones bajas: 16,1%. Concentraciones altas: 9,8 %.
- Dopamina: concentraciones bajas: 9,5%. Concentraciones altas: 15,8 %.

CV inter-análisis:

- Epinefrina concentraciones bajas: 13,2%. Concentraciones altas: 15,4 %.
- Norepinefrina: concentraciones bajas: 8,5%. Concentraciones altas: 15,0 %.
- Dopamina: concentraciones bajas: 15,9%. Concentraciones altas: 18,2 %.

Especificidad: reactividad cruzada de los anticuerpos anti- Epinefrina, anti- norepinefrina y anti-dopamina (%RC)

<b>Compuesto</b>	<b>%RC Epinefrina</b>	<b>%RC Norepinefrina</b>	<b>%RC Dopamina</b>
Epinefrina Derivatizada	100	0,14	0,03
Norepinefrina Derivatizada	0,20	100	0,87
Dopamina Derivatizada	<0,0007	0,20	100
Metanefrina	0,64	<0,003	<0,0007
Normetanefrina	0,0009	0,48	0,008
3-Metoxytiramina	<0,0007	<0,003	0,55
3-Metoxi-4-hidroxifenilglicol-tiramina	0,03	0,01	<0,0007
Fenilalanina, Cafeína, L-Dopa, ácido Homovanílico, Tirosina, ácido 3-Metoxi-4-hidroximandélico	<0,003	<0,0007	<0,0007

Linealidad: diluciones seriadas de un pool de muestras de suero equino han mostrado los siguientes resultados:

Epinefrina: rango de concentración de 4,9-339 ng/ml (diluciones seriadas hasta 1:64).

Norepinefrina: rango de concentración de 1,3-81,4 ng/ml (diluciones seriadas hasta 1:64).

Dopamina: rango de concentración de 14,0-917 pg/ml (diluciones seriadas hasta 1:64).

#### **E4. Determinación de las concentraciones de serotonina en suero equino mediante EIA de competición**

Tipo de ensayo: EIA de competición con extracción previa de la muestra. Técnica Serotonin-EIA (Demeditec, Diagnostics GmbH, Germany) que se validó para la especie equina.

Reactivos:

Placas de Poliestireno para la extracción/acilación de las muestras.

Placas EIA de poliestireno de 96 pocillos con una cantidad fija de serotonina.

Solución tampón de acilación.

Reactivo de Acilación.

Solución de lavado.

Solución tampón de ensayo (assay buffer).

Anticuerpo: anti-serotonina producido en conejo.

Conjugado: IgG anti-conejo unida a peroxidasa.

Rango de la curva estándar:

0,0; 15,0; 50,0; 150,0; 500,0; 2.500,0 ng/ml.

Controles:

Control 1: 100,0 ng/ml; control 2: 300,0 ng/ml.

Sustrato-cromógeno: Tetrametilbencidina (TMB).

Solución de frenado: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 0,25M.

Principio de la técnica: la serotonina es acilada previamente a la realización del análisis. La técnica EIA de competición se basa en la competición que se establece entre la serotonina de la muestra y la serotonina fijada a la fase sólida (microplaca de EIA), por unirse a los sitios de unión de un anticuerpo específico, para la serotonina, producido en conejo. El complejo serotonina-anticuerpo unido a la fase sólida es detectado por la anti-IgG peroxidasa y la reacción enzimática sustrato/peroxidasa se mide posteriormente a 450 nm. El color desarrollado será inversamente proporcional a la concentración de serotonina contenida en las muestras.

Desarrollo de la técnica:

1°. Acilación de la muestra.

1. Añadir 25 µl de estándares, controles y muestras en tubos.
2. Añadir 500 µl de la solución tampón de acilación.
3. Añadir 25 µl del reactivo de acilación.
4. Mezclar e incubar 15 minutos a temperatura ambiente.

2° Determinación de Serotonina.

1. Añadir 25 µl de estándares, controles y muestras (aciladas).
2. Añadir 100 µl de anticuerpo de serotonina a todos los pocillos.
3. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente en agitación.
4. Volcar y lavar 3 veces con 300 µl de solución de lavado.
5. Añadir 100 µl de conjugado a todos los pocillos.
6. Incubar 15 minutos a temperatura ambiente y en agitación.
7. Volcar y lavar 3 veces con 300 µl de solución de lavado.
8. Añadir 100 µl de sustrato SUBSTRATE.
9. Incubar 15 minutos a temperatura ambiente en agitación y oscuridad.
10. Añadir 100 µl de solución de frenado.
11. Lectura de la microplaca a 450nm.

Procesado de resultados:

El procesado de los resultados obtenidos en los análisis hormonales, se realizó con la ayuda del programa informático diseñado especialmente para ello en el Departamento de Informática de la Universidad de California (Davis, USA).

En este caso se calculó la curva patrón enfrentando las concentraciones estándar de cada una de las hormonas con sus respectivas densidades ópticas.

A continuación, el programa calculó las concentraciones de las muestras problema tomando como referencia las curvas patrón. Para expresar estas concentraciones en las unidades

correctas fue necesaria la introducción de un factor de corrección en función de la dilución utilizada. Las concentraciones de serotonina se expresan en ng/ml.

Parámetros de validación de la técnica EIA para la determinación de serotonina en suero equino:

Sensibilidad: Límite de detección: 5,0 ng/ml.

Exactitud: porcentaje medio de recuperación (recovery): 97,0%.

Precisión: CV intra-análisis:

- Concentraciones bajas: 5,4%. Concentraciones altas: 3,9 %.

CV inter-análisis:

- Concentraciones bajas: 6,0%. Concentraciones altas: 6,0 %.

Especificidad: reactividad cruzada de los anticuerpos anti- Epinefrina, anti- norepinefrina y anti-dopamina (% RC)

Compuesto	% RC Serotonina
Serotonina	100
Tryptamina	0,19
Melatonina	0,03
Fenilalanina	< 0,02
Histidina	< 0,02
Tyramina	< 0,02
5-hidroxi-triptófano	< 0,02

Linealidad: diluciones seriadas de un pool de muestras de suero equino han mostrado los siguientes resultados:

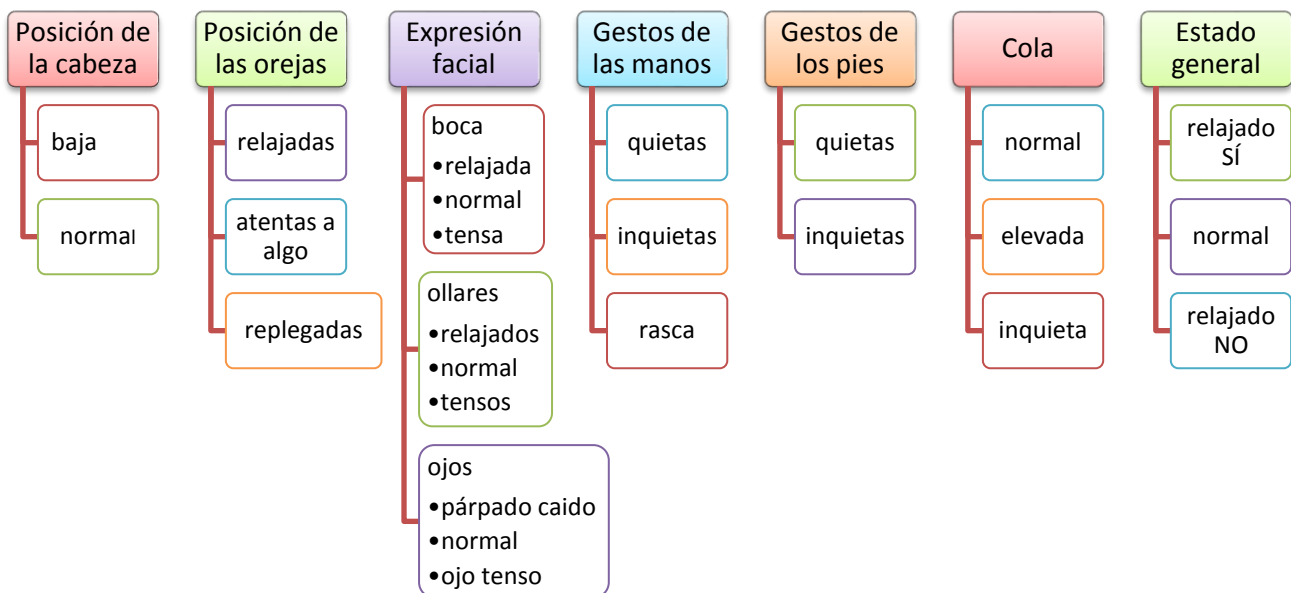
Rango de concentración de 40 a 860 ng/ml (diluciones seriadas hasta 1:16).

## F. Método observacional directo

Para evaluar el grado de relajación de los ejemplares, hemos utilizado el método observacional directo, para describir a través de la percepción del observador, los gestos que son indicativos de la activación del Sistema Nervioso Autónomo.

Los gestos se registraron en una plantilla que diseñamos al efecto.

Hemos realizado para este procedimiento una observación sistemática, directa con dos observadores no participantes (190). Se han registrado diferentes conductas no verbales relevantes en la expresión corporal del caballo, en las que se incluyen:



Esquema 15.-Esquema de las variables valoradas por observación directa

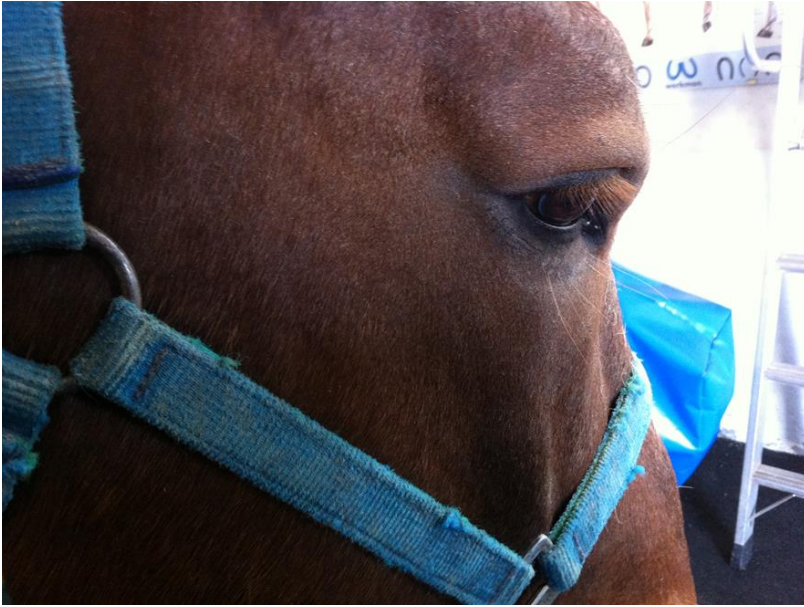


*Imagen 33.-Posición relajada de la cabeza. Fuente: propia.*



*Imagen 34.- Expresión facial: ollares y boca relajados. Fuente: propia.*

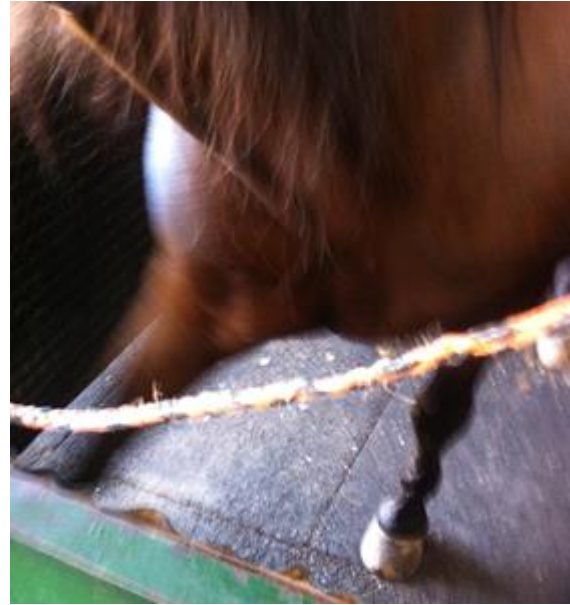




*Imagen 35.- Expresión facial: ojo relajado. Fuente: propia.*



*Imagen 36.- Estado general de relajación.*



*Imagen 37.-Gestos corporales de inquietud:*

*Ollares tensos*

*Rascar con las manos*

*Cabeza alta y tensión facial*

*Fuente: propia.*

También se ha tenido en cuenta la activación urogenital e intestinal y la constricción pupilar como muestra de relajación y por la activación del Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático en el ejemplar (191,88).



*Imagen 38.-Relajación del pene durante la realización de la punción nº3. Fuente: propia.*

La activación urogenital e intestinal entendiéndola como relajación de los genitales y vaciamiento de la vejiga e intestino, está relacionada con la actividad del Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático, ya que éste es el responsable de las funciones de protección y conservación. Los componentes funcionales del SNAP no actúan simultáneamente en condiciones normales, sino que participan en reflejos específicos o en reacciones integradas para promover una función visceral concreta. Así, la estimulación de distintos núcleos de neuronas parasimpáticas van a promover respuestas como:

- Constricción pupilar.
- Disminución de la Frecuencia Cardíaca.
- Activación urinaria e intestinal.
- Activación genital.

La observación de estas muestras de comportamiento se ha realizado en el mismo periodo de tiempo que la recogida de las variables objetivas cuantificables para, posteriormente, estudiar si hay correlación entre ambos datos.

Para poder realizar el análisis estadístico de estos comportamientos recogidos mediante observación directa, a cada rasgo se le asignó un valor numérico, tal y como se describe en la tabla adjunta.

( 15.01.13 70787 )

OBSERVACIÓN DIRECTA SIGNOS DE RELAJACIÓN

Observador 1: .....

	S.B.	15 MINUTOS	30 MINUTOS	45 MINUTOS	60 MINUTOS	75 MINUTOS
CABEZA	Baja Normal ✓ 1	Baja Normal ✓ 1	Baja Normal 0	Baja Normal 0	Baja Normal ✓ 1	Baja Normal ✓ 1
OREJAS	Atentas a algo ✓ Relajadas 1 Replegadas 1	Atentas a algo ✓ Relajadas 0 Replegadas 0	Atentas a algo ✓ Relajadas 0 Replegadas 0	Atentas a algo ✓ Relajadas 1 Replegadas 1	Atentas a algo ✓ Relajadas 0 Replegadas 0	Atentas a algo ✓ Relajadas 1 Replegadas 1
CARA	Boca relajada normal 1 Boca tensa 0 Ollares tensos 0 Ollares relajados 0 Parpado caído 0 Ojo tenso 0	Boca relajada 0 Boca tensa 0 Ollares tensos 0 Ollares relajados 0 Parpado caído 0 Ojo tenso 0	Boca relajada ✓ Boca tensa 0 Ollares tensos 0 Ollares relajados 0 Parpado caído 0 Ojo tenso 1	Boca relajada ✓ Boca tensa 0 Ollares tensos 0 Ollares relajados 0 Parpado caído 0 Ojo tenso 0	Boca relajada ✓ Boca tensa 0 Ollares tensos 1 Ollares relajados 1 Parpado caído 1 Ojo tenso 1	Boca relajada ✓ Boca tensa 0 Ollares tensos 0 Ollares relajados 0 Parpado caído 1 Ojo tenso 1
MANOS	Quietas ✓ Rasca 0 Inquieto 0	Quietas ✓ Rasca 0 Inquieto 0	Quietas ✓ Rasca 0 Inquieto 0	Quietas ✓ Rasca 1 Inquieto 1	Quietas ✓ Rasca 0 Inquieto 0	Quietas ✓ Rasca 2 Inquieto 0
PIES	Postura relajada 0 Inquieto 0	Postura relajada 0 Inquieto 0	Postura relajada 0 Inquieto 0	Postura relajada 1 Inquieto 1	Postura relajada 1 Inquieto 1	Postura relajada 1 Inquieto 1
COLA	Elevada ✓ Baja 0 Inquieta 0	Elevada ✓ Baja 0 Inquieta 0	Elevada ✓ Baja 0 Inquieta 0	Elevada ✓ Baja 0 Inquieta 2	Elevada ✓ Baja 0 Inquieta 0	Elevada ✓ Baja 0 Inquieta 0
GENERAL	Relajado 1 SI/NO ✓	Relajado 0 SI/NO 0	Relajado 0 SI/NO 0	Relajado 0 SI/NO 0	Relajado 1 SI/NO 1	Relajado 1 SI/NO 1

Imagen 39.-Ejemplo del valor numérico asignado a los rasgos registrados por el método observacional directo.

Fuente: propia.

## **G. Análisis estadístico de los resultados**

El análisis estadístico se realizó en el Centro de Cálculo de la Universidad Complutense de Madrid, mediante el empleo de los programas estadísticos SAS 9.4 (Statistical Analysis Systems, SAS/STAT, Inst. Inc, Cary NC, EEUU), SPSS 22 (IBM SPSS Statistics V22.0, EEUU) y Sigma Plot (Systat software Inc, Chicago, IL, EEUU).

Las variables estadísticas analizadas fueron:

- Grupo animal: grupos 1 y 2. Se consideraron como variables independientes.
- Momento: 0, 15, 30, 45, 60 y 75 minutos. Se consideró como variable independiente.
- Variables cuantitativas o numéricas: concentraciones hormonales de: ACTH, cortisol, epinefrina, norepinefrina, serotonina y dopamina. Frecuencia cardíaca, presión arterial sistólica y diastólica, frecuencia respiratoria y temperatura. Se consideraron como variables dependientes.
- Variables cualitativas o no paramétricas: constricción pupilar, activación genital, posición de la cabeza y de las orejas, gesto de boca, ollares y ojos, posición de manos, pies y cola. Estado general del animal. Se consideraron como variables dependientes

En primer lugar, se realizó un análisis descriptivo de todas las variables cuantitativas incluyendo los valores de media, desviación estándar, error estándar de la media, valor máximo y mínimo.

En el análisis descriptivo de las variables cualitativas categóricas se obtuvieron las frecuencias y los porcentajes de las categorías.

Para cada variable dependiente cuantitativa del estudio, se evaluó la interacción momento vs grupo con un análisis de varianza (ANOVA) bifactorial con medidas repetidas en el tiempo. Si el p valor del ANOVA bifactorial es significativo y hay más de dos grupos, se realiza el Test de Duncan para comparaciones múltiples. En los casos en los que la interacción no es significativa, se realizó un ANOVA unifactorial de medidas repetidas en el tiempo para cada grupo por separado, con el fin de comprobar la evolución de la variable en el tiempo. Si el valor p del ANOVA unifactorial asociado al momento es significativo, se realiza el Test de Duncan para comparaciones múltiples. Para evaluar si existen diferencias

estadísticamente significativas entre las medias de los valores de las variables entre los grupos, para cada momento por separado, se realiza un test t de student.

Las variables dependientes cualitativas se analizaron mediante el test Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) que compara los porcentajes de esas variables en cada grupo y cada momento. La frecuencia esperada según la hipótesis nula tiene que ser 5 en cada celda como mínimo, si esto no se cumple, se emplea el Test de Exactitud de Fisher. Para comprobar la prevalencia de cada variable a lo largo del tiempo se realizó un test de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ).

En todos los análisis estadísticos el nivel de confianza fue del 95% y se consideraron diferencias estadísticamente significativas para los valores  $p < 0,05$ . Los resultados han sido expresados como media  $\pm$  error estándar de la media.



# Resultados

---



Una vez seleccionado el tipo de punción más eficiente para alcanzar los objetivos de este estudio, se pasan a describir los resultados obtenidos para las variables cuantitativas y cualitativas.

La Punción 3 que incluye los puntos Baihui, V60 en el lado derecho y Vaso Gobernador16 (VG16) resultó ser la que más cambios provocó en los caballos, como se muestra en los resultados obtenidos.

Las concentraciones hormonales séricas y las restantes variables cuantitativas se presentan en forma de gráficas en las que se describe, para cada variable, su evolución en el tiempo, la interacción que existe entre los grupos a lo largo del tiempo, las diferencias que existen entre los dos grupos de animales y, la evolución de la variable en función del tiempo, para el total de la población y para cada grupo de animales por separado.

Las variables cualitativas se presentan en gráficos de porcentajes del total de la población para cada momento, una tabla de comparaciones múltiples, en la que se comparan los porcentajes de cada variable, en cada uno de los momentos del estudio, en el total de la población y, gráficos de porcentajes de cada grupo para cada momento del estudio.

**a. Concentraciones hormonales séricas:**

- i. ACTH.
- ii. Cortisol.
- iii. Epinefrina.
- iv. Norepinefrina.
- v. Serotonina.
- vi. Dopamina.

**b. Restantes variables cuantitativas:**

- i. Frecuencia cardiaca.
- ii. Frecuencia respiratoria.
- iii. Presión arterial: sistólica y diastólica.
- iv. Temperatura corporal.

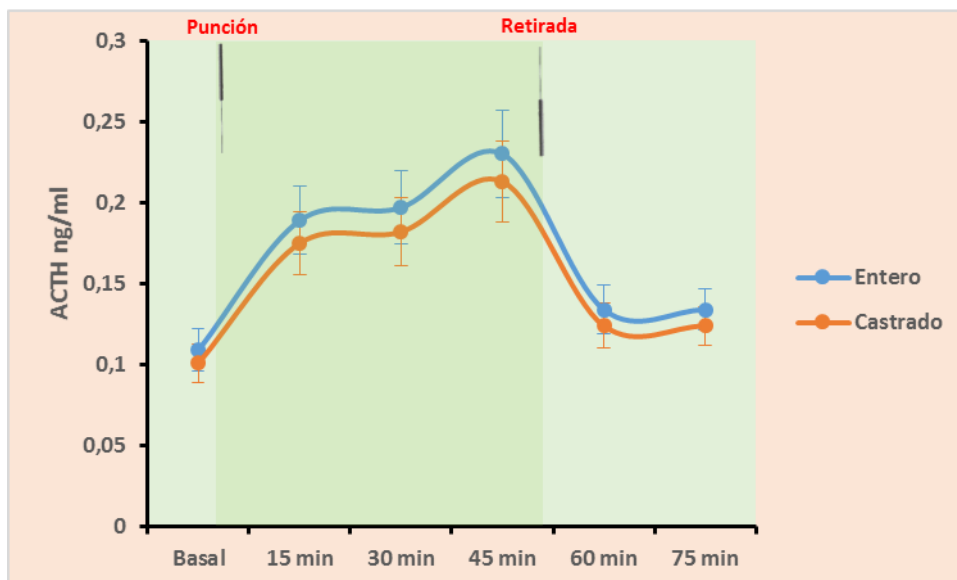
**c. Variables cualitativas:**

- i. Constricción pupilar.
- ii. Activación urogenital e intestinal.
- iii. Posición de la cabeza.
- iv. Posición de las orejas.
- v. Gesto de la boca.
- vi. Gesto de los ollares.
- vii. Gesto de los ojos.
- viii. Posición de las manos.
- ix. Posición de los pies.
- x. Posición de la cola.
- xi. Estado general.

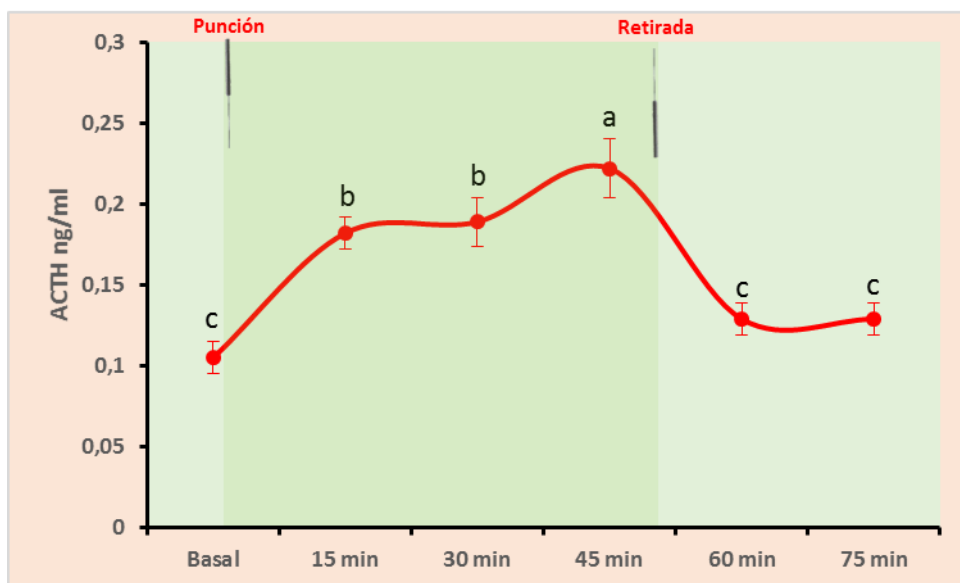
**a.- Concentraciones hormonales séricas**

**i. ACTH**

Tras la analítica hormonal se obtienen los siguientes resultados de las concentraciones de ACTH (ng/ml  $\pm$  ES).



Gráfica 1.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de ACTH sérica (ng/ml  $\pm$  ES) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las diferencias entre los dos grupos en cada momento del estudio.



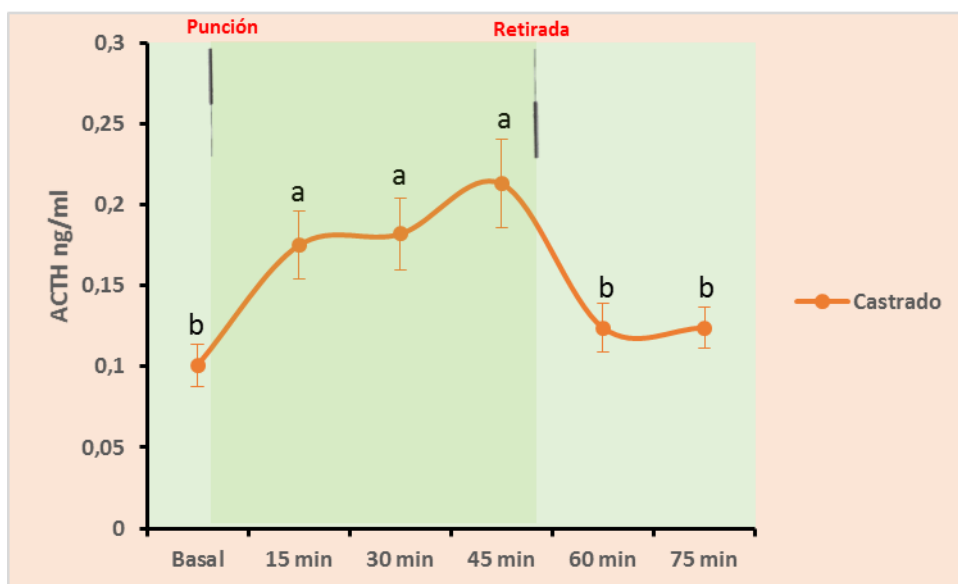
Gráfica 2.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de ACTH sérica (ng/ml  $\pm$  ES) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	Basal 0	15'	30'	45'	60'	75'
<b>Media</b>	0,10	0,18	0,19	0,22	0,13	0,13
<b>ES</b>	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01

Tabla 1.- Tabla de medias de los valores de ACTH (ng/ml) de ambos grupos ( $n = 30$ ) en cada momento del estudio y error estándar de la media.



Gráfica 3.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de ACTH sérica (ng/ml  $\pm$  ES) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



Gráfica 4.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de ACTH sérica (ng/ml  $\pm$  ES) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Gráfica 1 se representa la interacción grupo x momento, en la que se observa que los valores de ACTH presentan un perfil similar en ambos grupos ( $p = 0,999$ ), elevándose desde la colocación de las agujas y, alcanzando su valor máximo en la cuarta medición (45'). Los valores son levemente superiores en el grupo de los caballos enteros siendo de  $0,23 \pm 0,03$  ng/ml y de  $0,21 \pm 0,02$  ng/ml, en el caso del grupo de los castrados. Tras la retirada de las agujas, los valores descienden acercándose a los valores de inicio. Cuando se realiza la comparación de las medias de cada grupo, en cada momento, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de animales.

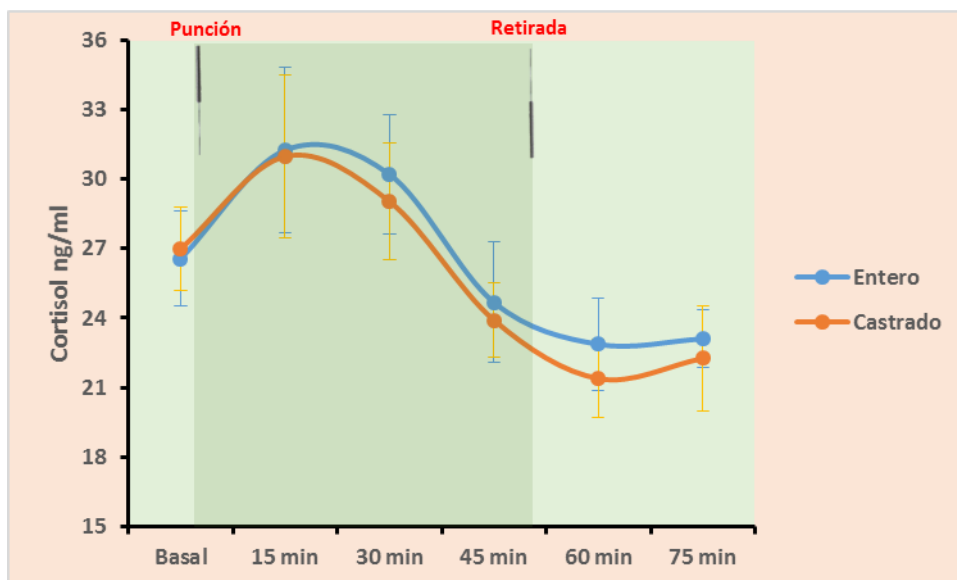
En la gráfica 2 se describe la evolución de la ACTH, a lo largo del estudio, en el total de la población. Al realizar el test de Duncan de comparaciones múltiples, se puede observar que, la elevación que experimentan las concentraciones de ACTH desde la colocación de las agujas es estadísticamente significativa a los 15' ( $p < 0,05$ ), respecto de la toma basal (momento 0); las concentraciones siguen elevándose hasta alcanzar su máximo a los 45' ( $p < 0,05$ ), momento en el que se retiran las agujas. Al comparar las diferencias que existen entre los momentos durante el periodo en el que las agujas están colocadas, observamos que la subida es gradual desde el momento 15' ( $0,18 \pm 0,01$  ng/ml) hasta el 30' ( $0,19 \pm 0,01$  ng/ml), no encontrándose significación estadística entre ambas tomas; posteriormente la ACTH sigue elevándose hasta el momento 45' ( $0,22 \pm 0,02$  ng/ml), en el que sí se observa significación estadística respecto a las tomas anteriores. Una vez retiradas las agujas, los valores descienden bruscamente hasta los 60' ( $0,13 \pm 0,01$  ng/ml), siendo este descenso

significativo ( $p < 0,05$ ), para luego estabilizarse a los 75' ( $0,13 \pm 0,01$  ng/ml), alcanzando valores un poco más elevados a los basales, pero sin significación estadística respecto a la toma basal ( $0,13 \pm 0,01$  ng/ml vs  $0,10 \pm 0,01$  ng/ml;  $p > 0,05$ ).

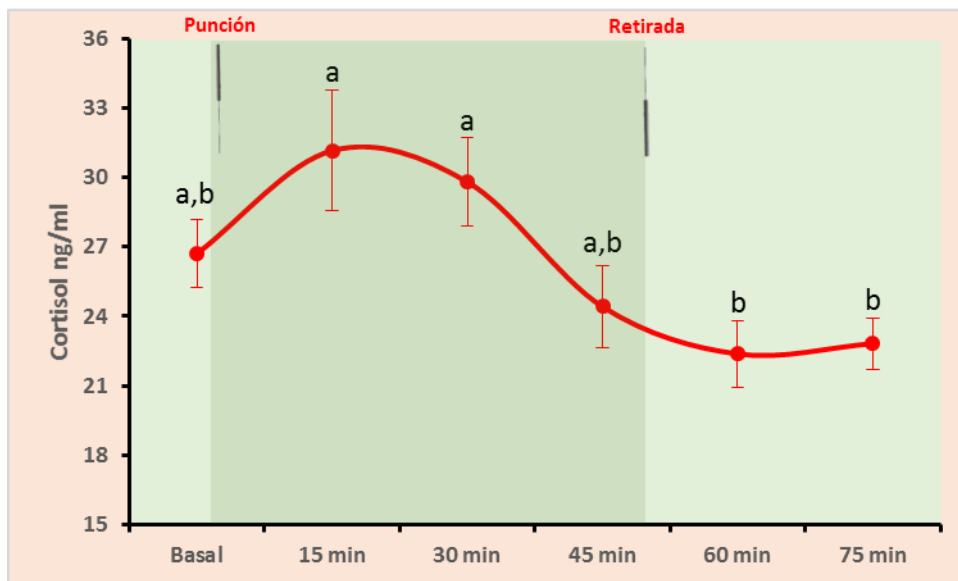
En las gráficas 3 y 4, está representada la evolución de las concentraciones de ACTH, a lo largo del tiempo, en cada grupo de animales. Esta evolución es idéntica en ambos grupos y muy similar al patrón que se observa en el total de la población. La única diferencia que podemos reseñar es que, la elevación de las concentraciones de ACTH en el periodo en el que están colocadas las agujas (momentos 15' a 45'), no presenta significación estadística entre sí ( $p > 0,05$ ), cuando se analiza cada grupo por separado, pero sí existe significación cuando se comparan con las concentraciones de los momentos 0', 60' y 75' ( $p < 0,05$ ), en ambos grupos.

## ii. Cortisol

Tras la analítica hormonal se obtienen los siguientes resultados de las concentraciones de cortisol (ng/ml  $\pm$  ES).



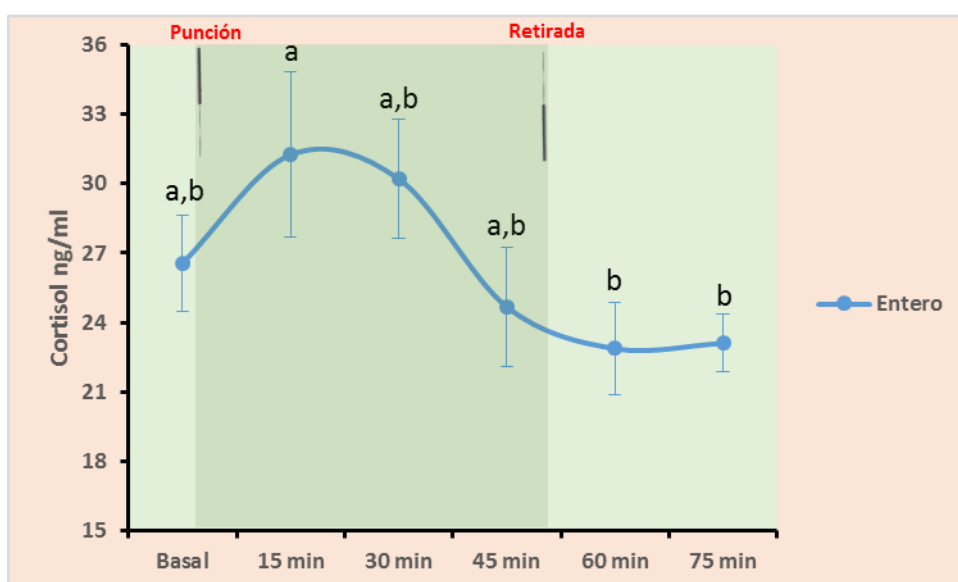
Gráfica 5.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de cortisol sérico (ng/ml  $\pm$  ES) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



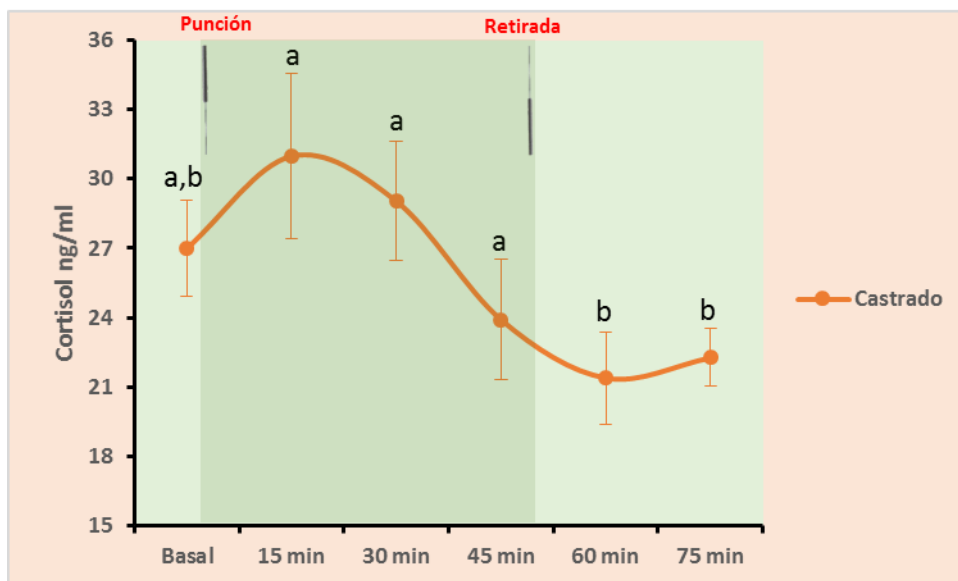
Gráfica 6.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de cortisol sérico (ng/ml  $\pm$  ES) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	Basal 0'	15'	30'	45'	60'	75'
<b>Media</b>	26,71	31,17	29,82	24,42	22,38	22,82
<b>ES</b>	1,49	2,62	1,89	1,79	1,43	1,10

Tabla 2.- Tabla de medias para los valores de cortisol sérico (ng/ml) de ambos grupos ( $n = 30$ ) en cada momento del estudio y error estándar de la media.



Gráfica 7.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de cortisol sérico (ng/ml  $\pm$  ES) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



Gráfica 8.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de cortisol sérico (ng/ml  $\pm$  ES) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Gráfica 5 se representa la interacción grupo x momento, en la que se observa que los valores de cortisol presentan un perfil similar en ambos grupos ( $p = 0,898$ ), elevándose desde la colocación de las agujas y alcanzando su valor máximo a los 15' después de la punción, para ir descendiendo, paulatinamente, en el resto de la punción, situándose por debajo de los valores basales ya en la punción de los 45', observándose el mínimo a los 60' para, posteriormente, subir ligeramente a los 75'. Los valores máximos de cortisol sérico los encontramos en el grupo de los caballos enteros ( $31,17 \pm 2,62$  ng/ml), 15 minutos después de la punción. Los mínimos valores pertenecen al grupo de los caballos castrados en la quinta medición ( $21,39 \pm 1,67$  ng/ml). Aunque el perfil del grupo I muestra concentraciones más elevadas que las del grupo II a partir del momento 15', al realizar el test de diferencia de medias entre los dos grupos, en cada uno de los momentos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias.

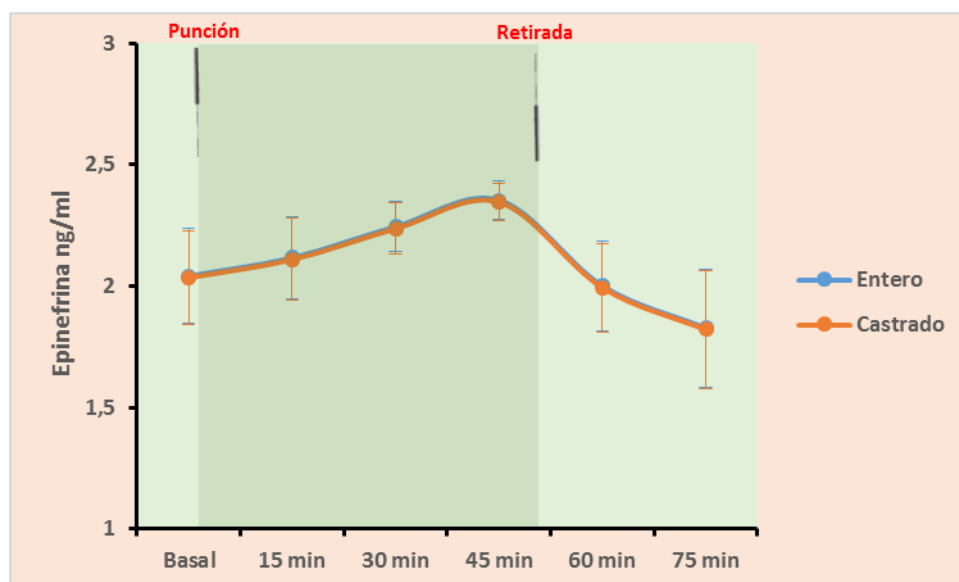
En la gráfica 6 se describe la evolución del cortisol, a lo largo del estudio, en el total de la población. Al realizar el test de Duncan de comparaciones múltiples, se puede observar que, el cortisol alcanza sus valores máximos en el momento 15' ( $31,17 \pm 2,62$  ng/ml), no presentando significación estadística con los valores medidos en la toma basal ( $26,71 \pm 1,49$  ng/ml;  $p > 0,05$ ). A partir de este momento, se produce un descenso gradual en las concentraciones de cortisol que, es más acusado, a partir de la retirada de las agujas en el momento 45' ( $24,42 \pm 1,79$  ng/ml), aunque esta disminución no es estadísticamente

significativa con los momentos anteriores (0', 15' y 30';  $p > 0,05$ ), pero sí lo es con las tomas de los momentos 60' (en la que el cortisol alcanza sus valores mínimos:  $22,38 \pm 1,43$  ng/ml) y 75' ( $22,83 \pm 1,10$  ng/ml). Estos dos últimos valores se sitúan por debajo de los medidos en la toma basal, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

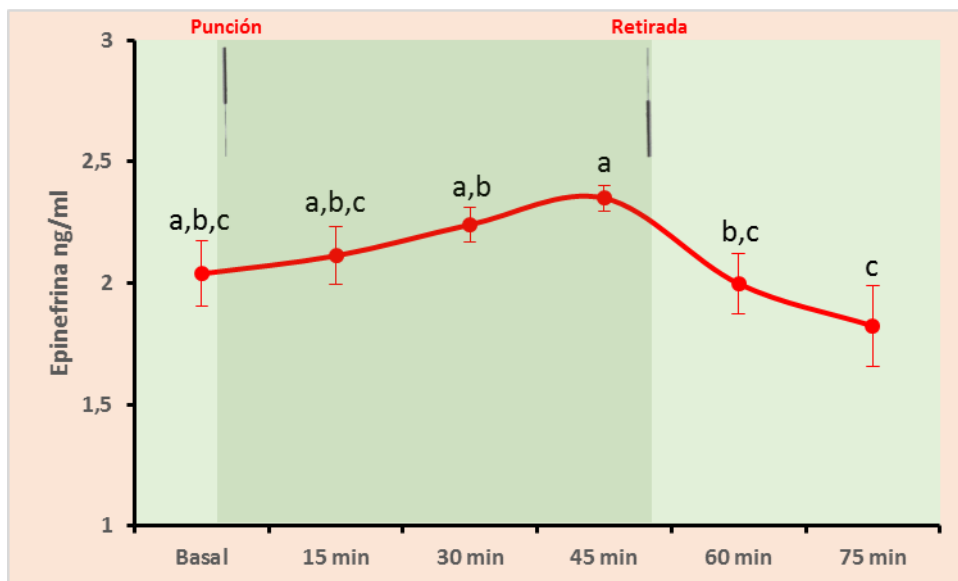
En las gráficas 7 y 8, está representada la evolución de las concentraciones de cortisol, a lo largo del tiempo, en cada grupo de animales. En este caso la evolución del perfil es ligeramente distinta en cada grupo y, a la del total de la población. Probablemente, esto sea debido a la elevada variabilidad individual encontrada en cada uno de los momentos en los dos grupos, aunque en ambos, el valor máximo de las concentraciones de cortisol se alcanza a los 15' después de la colocación de las agujas y, el valor mínimo a los 60', siendo significativamente inferior al valor de la toma basal ( $p < 0,05$ ). Además, en los dos grupos se observa que, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores medidos en la toma basal y el periodo de tiempo en el que están colocadas las agujas (momentos 15', 30' y 45';  $p < 0,05$ ), pero sí se observan en el momento de la retirada de éstas (momentos 60' y 75';  $p > 0,05$ ).

### iii. Epinefrina

Tras la analítica hormonal se obtienen los siguientes resultados de las concentraciones de epinefrina (ng/ml  $\pm$  ES).



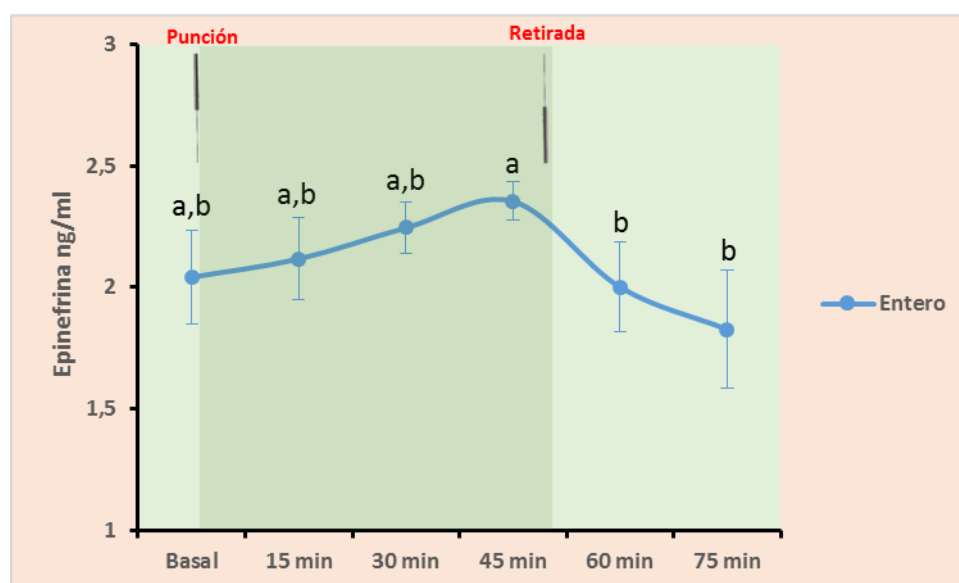
Gráfica 9.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de epinefrina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



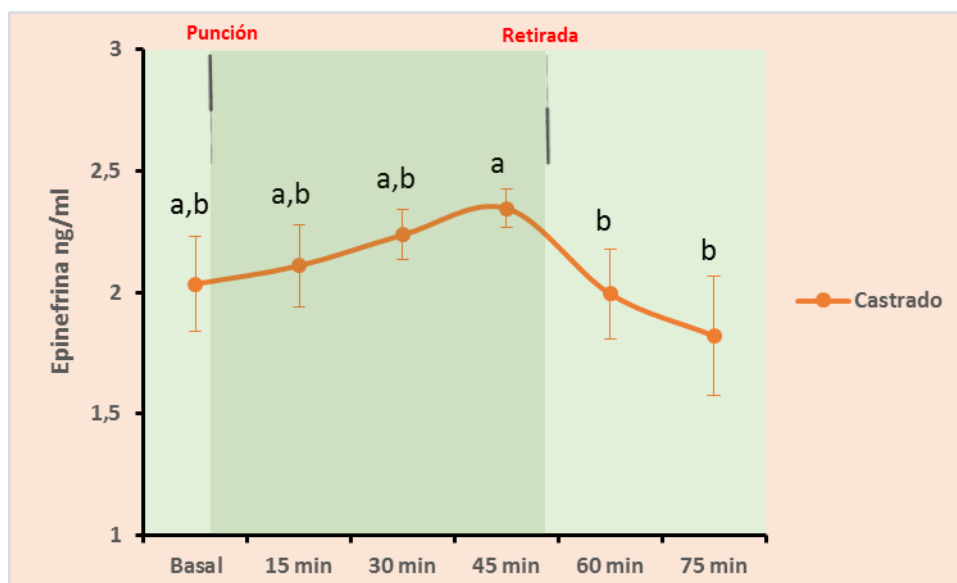
Gráfica 10.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de epinefrina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	Basal	15'	30'	45'	60'	75'
<b>Media</b>	2,04	2,11	2,24	2,35	1,99	1,82
<b>ES</b>	0,13	0,12	0,07	0,05	0,13	0,17

Tabla 3.- Tabla de medias para los valores de epinefrina sérica (ng/ml) de ambos grupos ( $n = 30$ ) en cada momento del estudio y error estándar de la media.



Gráfica 11.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de epinefrina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



Gráfica 12.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de epinefrina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Gráfica 9 se representa la interacción grupo x momento, en la que se observa que los valores de epinefrina presentan un perfil prácticamente idéntico en ambos grupos ( $p = 1,000$ ), elevándose desde la colocación de las agujas y, alcanzando su valor máximo a los 45' después de la punción, para ir descendiendo paulatinamente en el resto de la punción, situándose por debajo de los valores basales ya en la punción de los 60', observándose el mínimo a los 75'. Al realizar el test de diferencia de medias entre los dos grupos, en cada uno de los momentos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias ( $p > 0,05$ ).

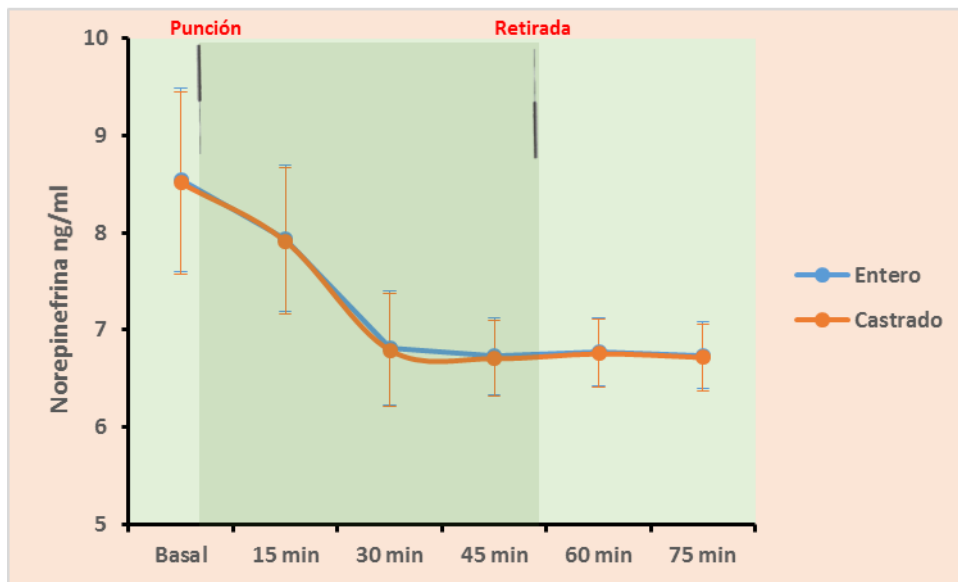
En la gráfica 10 se describe la evolución de la epinefrina, a lo largo del estudio, en el total de la población. Al realizar el test de Duncan de comparaciones múltiples, se puede observar que, la epinefrina alcanza sus valores máximos en el momento 45' ( $2,35 \pm 0,05$  ng/ml), no presentando significación estadística con los valores medidos en las toma basal, 15' y 30' ( $2,11 \pm 0,13$  ng/ml;  $2,11 \pm 0,12$  ng/ml y  $2,24 \pm 0,07$  ng/ml,  $p > 0,05$ ). A partir de este momento se produce un descenso significativo de las concentraciones de epinefrina ( $1,99 \pm 0,13$  ng/ml en el momento 60';  $p < 0,05$ ), alcanzando los valores mínimos en la toma 75' ( $1,82 \pm 0,17$  ng/ml;  $p < 0,05$ ) que presenta significación estadística con los momentos 0'; 15'; 30' y 45' ( $p < 0,05$ ), pero no con el momento 60' ( $p < 0,05$ ).

En las gráficas 11 y 12, está representada la evolución de las concentraciones de epinefrina, a lo largo del tiempo, en cada grupo de animales. En este caso la evolución del

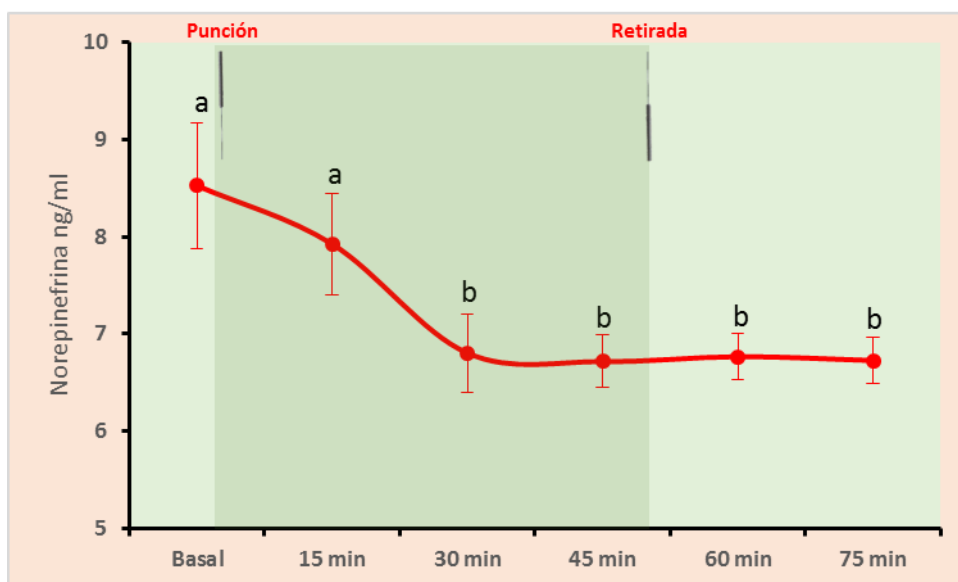
perfil hormonal a lo largo del tiempo, es idéntica en cada grupo y a la del total de la población.

#### iv. Norepinefrina

Tras la analítica hormonal se obtienen los siguientes resultados de las concentraciones de norepinefrina (ng/ml  $\pm$  ES).



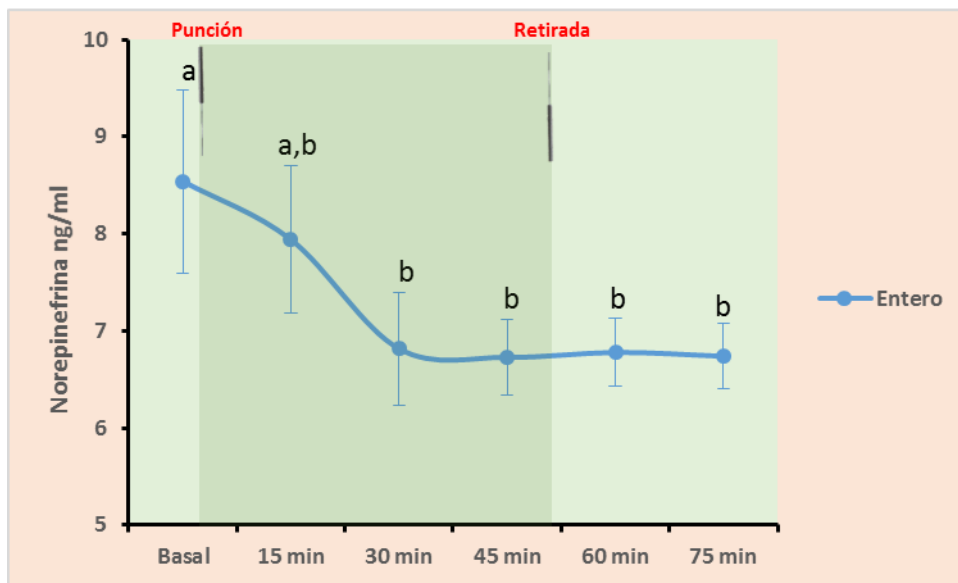
Gráfica 13.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de norepinefrina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



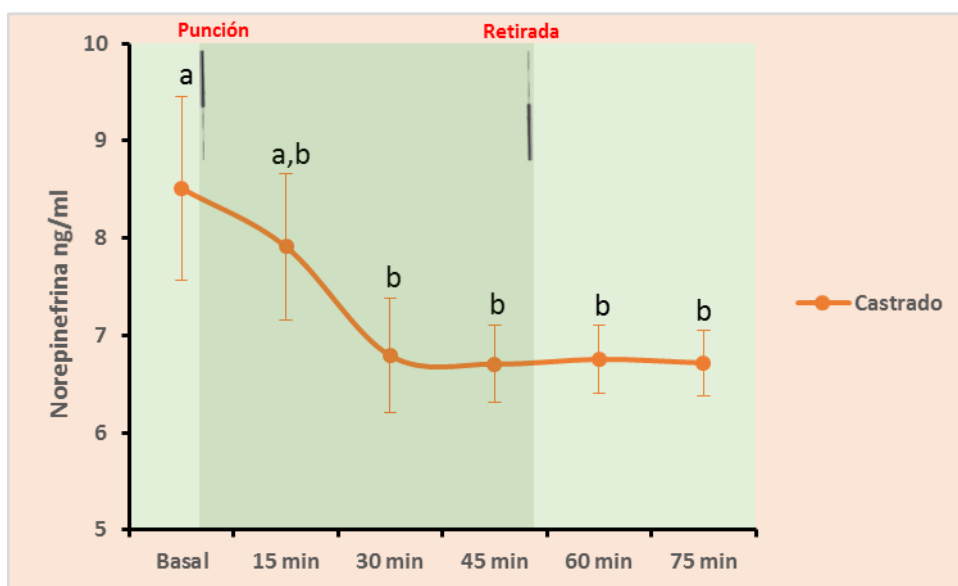
Gráfica 14.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de norepinefrina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	Basal 0'	15'	30'	45'	60'	75'
<b>Media</b>	8,53	7,93	6,80	6,72	6,77	6,73
<b>ES</b>	0,65	0,52	0,40	0,27	0,24	0,23

Tabla 4.- Tabla de medias para los valores de serotonina sérica (ng/ml) de ambos grupos en cada momento (n = 30) del estudio y error estándar de la media.



Gráfica 15.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de norepinefrina sérica (ng/ml ± ES) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05).



Gráfica 16.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de norepinefrina sérica (ng/ml ± ES) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05).

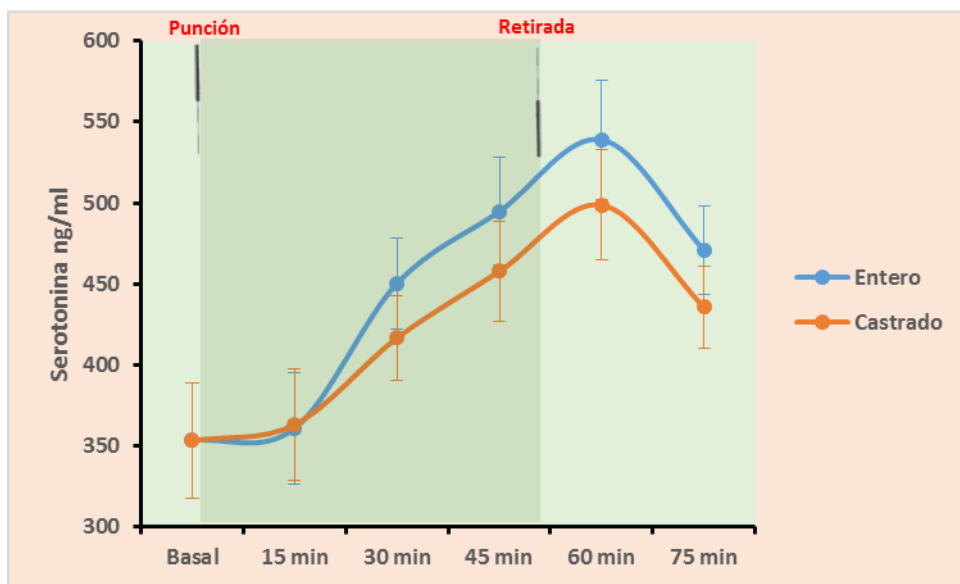
En la Gráfica 13 se representa la interacción grupo x momento, en la que se observa que los valores de norepinefrina presentan un perfil prácticamente idéntico en ambos grupos ( $p= 1,000$ ), disminuyendo desde la colocación de las agujas y alcanzando su valor mínimo a los 45' después de la punción, para ascender, ligeramente, después de la retirada de las agujas (momento 60') y volver a descender a los 75'. Al realizar el test de diferencia de medias entre los dos grupos, en cada uno de los momentos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias ( $p > 0,05$ ).

En la gráfica 14 se describe la evolución de la norepinefrina, a lo largo del estudio, en el total de la población. Al realizar el test de Duncan de comparaciones múltiples, se puede observar que, la norepinefrina comienza a descender después de la colocación de las agujas y alcanza sus valores mínimos en el momento 45' ( $6,72 \pm 0,27$  ng/ml), presentando significación estadística con los valores medidos en la toma basal ( $8,53 \pm 0,65$  ng/ml) y no siendo significativamente diferente con el resto de las tomas: 15'; 30'; 60' y 75' ( $p > 0,05$ ). Al final de la experimentación, esta hormona permanece significativamente más baja respecto a los valores basales ( $6,73 \pm 0,23$  ng/ml vs  $8,53 \pm 0,65$  ng/ml  $p < 0,05$ ).

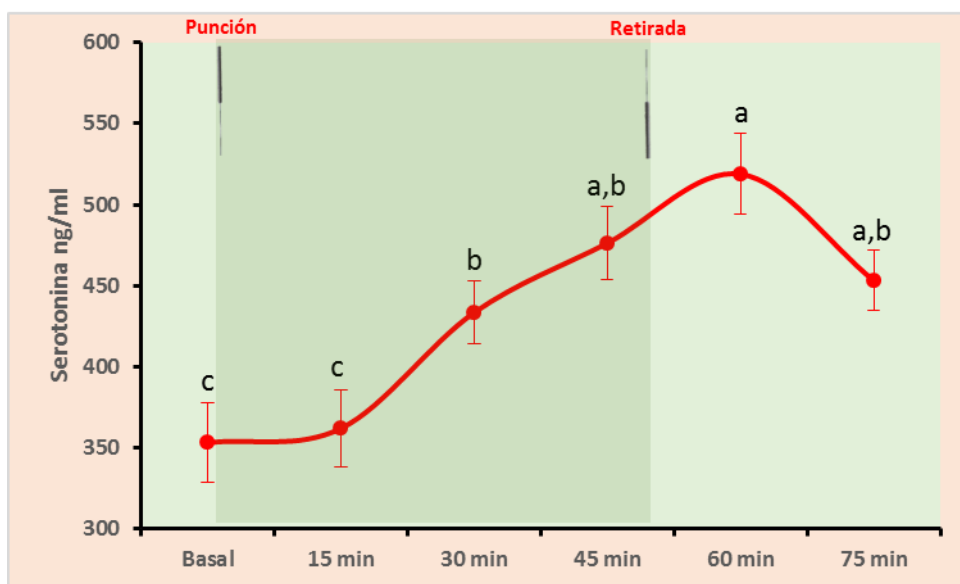
En las gráficas 15 y 16, está representada la evolución de las concentraciones de norepinefrina, a lo largo del tiempo, en cada grupo de animales. En este caso la evolución del perfil hormonal a lo largo del tiempo es idéntica en cada grupo y muy similar a la del total de la población.

#### **v. Serotonina**

Tras la analítica hormonal se obtienen los siguientes resultados de las concentraciones de serotonina (ng/ml  $\pm$  ES).



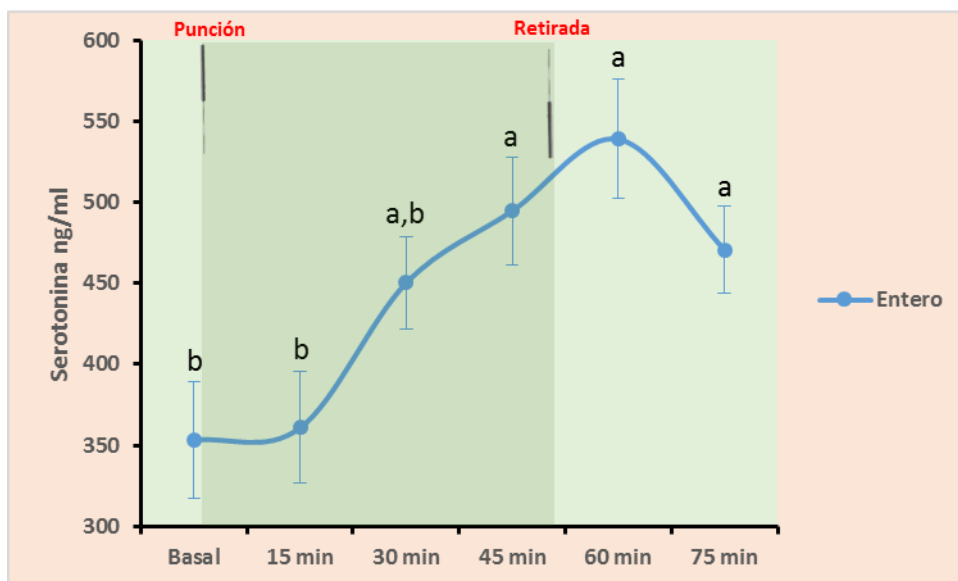
Gráfica 17.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de serotonina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



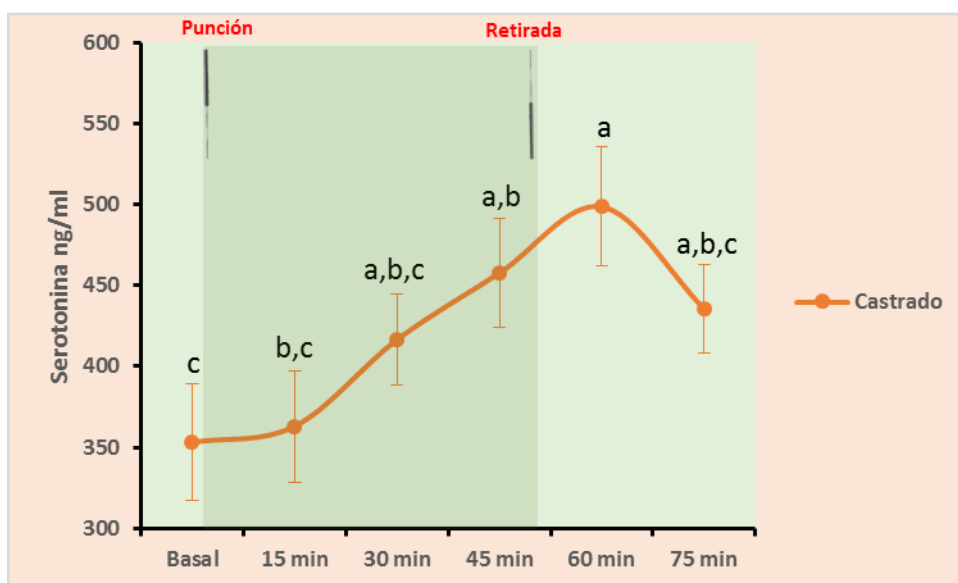
Gráfica 18.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de serotonina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	Basal	15'	30'	45'	60'	75'
<b>Media</b>	353,19	361,91	433,45	476,25	518,87	453,19
<b>ES</b>	24,63	23,79	19,10	22,60	24,80	18,39

Tabla 5.- Tabla de medias para los valores de serotonina sérica (ng/ml) de ambos grupos (n= 30) en cada momento del estudio y error estándar de la media.



Gráfica 19.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de serotonina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



Gráfica 20.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de serotonina sérica (ng/ml  $\pm$  ES) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Gráfica 17 se representa la interacción grupo x momento, en la que se observa que los valores de serotonina presentan una evolución muy similar en ambos grupos ( $p = 0,967$ ), aumentando paulatinamente desde la colocación de las agujas y, alcanzando su valor máximo a los 60', siendo de  $539,06 \pm 36,75$  ng/ml para el grupo de los caballos enteros y de  $498,69 \pm 33,99$  ng/ml, en el caso del grupo de los castrados, para volver a descender a los 75', pero permaneciendo más elevadas que en la toma basal. Aunque desde el momento 15', los

valores son más altos en el grupo de animales enteros, al realizar el test de diferencia de medias entre los dos grupos, en cada uno de los momentos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias ( $p > 0,05$ ), volvemos a señalar que esto puede ser debido a la elevada variabilidad individual que se mide en los dos grupos de caballos.

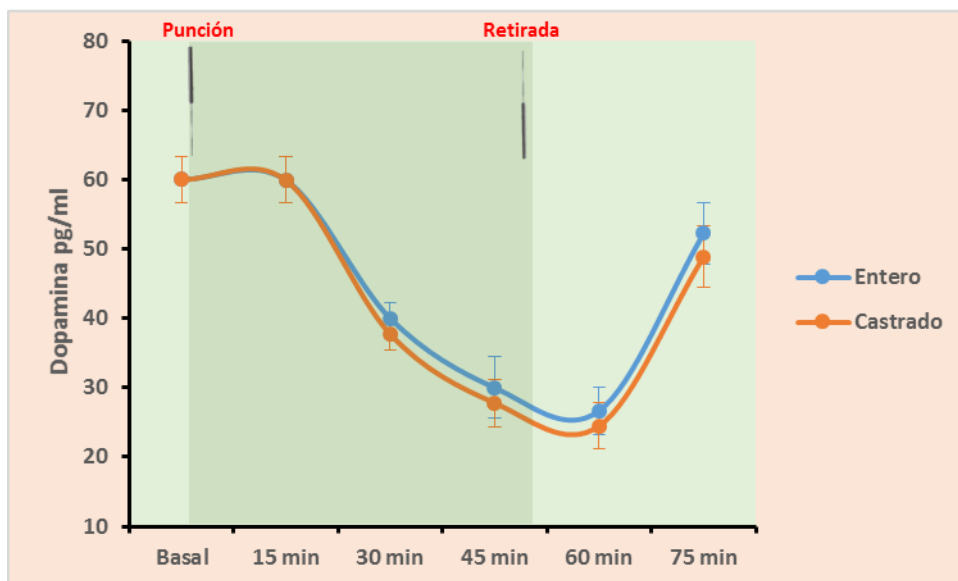
En la gráfica 18 se describe la evolución de la serotonina, a lo largo del estudio, en el total de la población. Al realizar el test de Duncan de comparaciones múltiples, se puede observar que, la serotonina comienza a ascender después de la colocación de las agujas y alcanza sus valores máximos en el momento 60' ( $518,87 \pm 24,8$  ng/ml), quince minutos después de retirar las agujas de acupuntura, presentando significación estadística con los valores medidos en las tomas basal; 15' y 30' ( $353,19 \pm 24,63$  ng/ml;  $361,91 \pm 23,79$  ng/ml y  $433,45 \pm 19,10$  ng/ml;  $p < 0,05$ ) y no siendo significativamente diferente con el resto de las tomas: 60' y 75' ( $p > 0,05$ ). Al final de la experimentación, esta hormona permanece significativamente más elevada respecto a los valores iniciales ( $453,19 \pm 18,39$  ng/ml vs  $353,19 \pm 24,63$  ng/ml  $p < 0,05$ ).

En las gráficas 19 y 20, está representada la evolución de las concentraciones de serotonina, a lo largo del tiempo, en cada grupo de animales. En este caso la evolución del perfil hormonal, aunque es similar, presenta ligeras diferencias entre un grupo y otro. En el perfil del grupo I (caballos enteros) se observa una elevación más brusca de las concentraciones de esta hormona, presentando significación estadística desde el momento 45', respecto a los momentos 0'; 15' y 30' ( $p < 0,05$ ), no siéndolo con los momentos 60' y 75' ( $p > 0,05$ ). Los valores máximos se observan en el momento 60'. Al final del estudio, los valores de serotonina permanecen significativamente más elevados respecto a los basales ( $p < 0,05$ ).

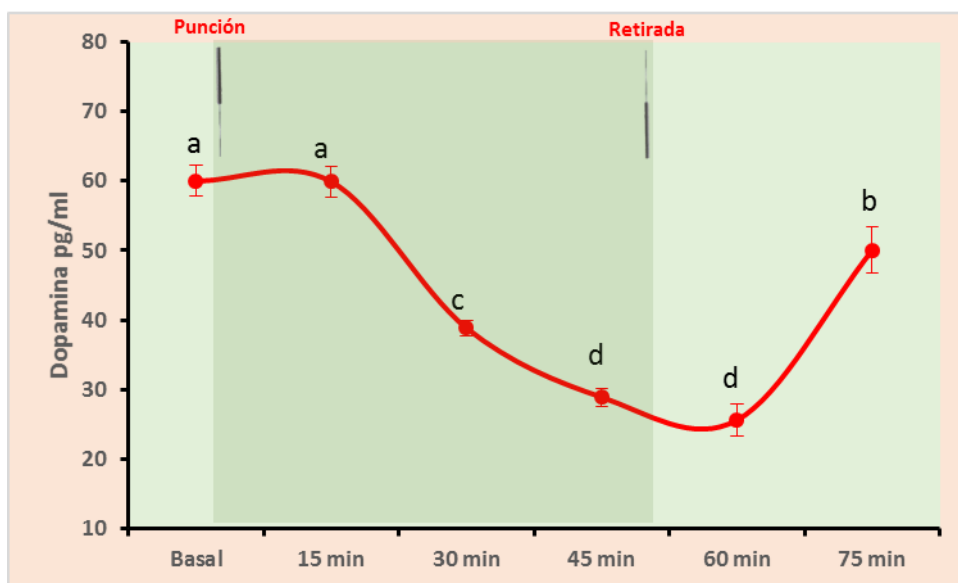
El grupo II presenta una subida más gradual de las concentraciones de esta hormona, lo que se refleja en la significación estadística de los distintos momentos del estudio, observándose los valores máximos también en el momento 60'. Hay que resaltar que, en este grupo, aunque las concentraciones de la toma final siguen siendo más elevadas que las de la toma basal, no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambas ( $p > 0,05$ ).

## **vi. Dopamina**

Tras la analítica hormonal se obtienen los siguientes resultados de las concentraciones de dopamina (pg/ml  $\pm$  ES).



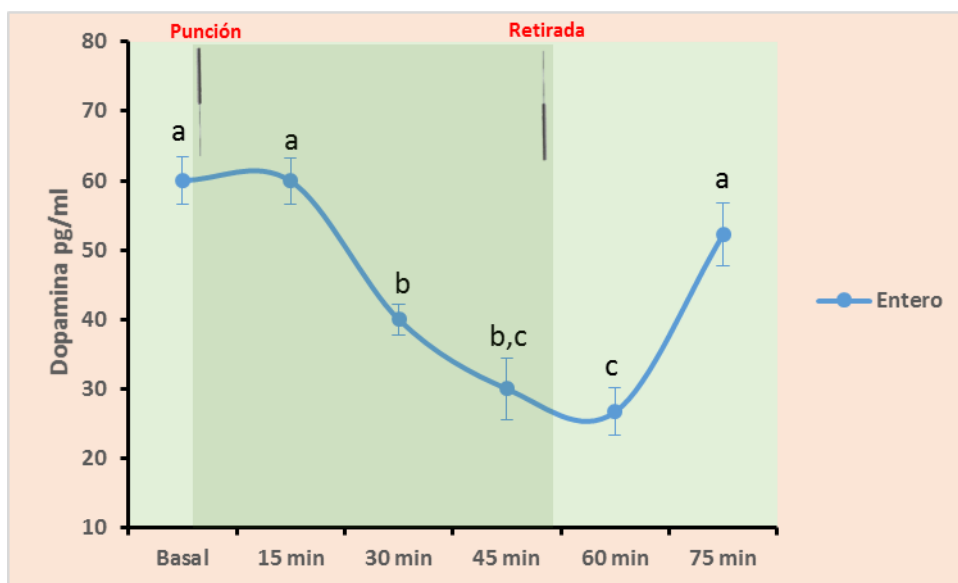
Gráfica 21.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de dopamina sérica (pg/ml) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



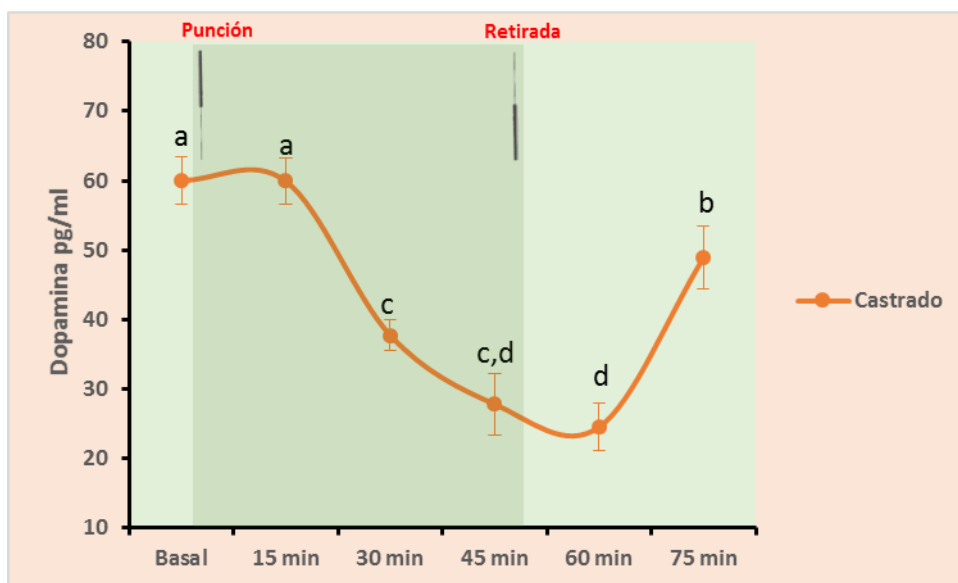
Gráfica 22.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de dopamina sérica (pg/ml) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	Basal	15'	30'	45'	60'	75'
<b>Media</b>	60,03	59,92	38,84	28,90	25,59	50,06
<b>ES</b>	2,25	2,23	1,16	2,27	2,26	3,33

Tabla 6.- Tabla de medias para los valores de dopamina sérica (pg/ml) de ambos grupos ( $n = 30$ ) en cada momento del estudio y error estándar de la media.



Gráfica 23.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de dopamina sérica (pg/ml) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



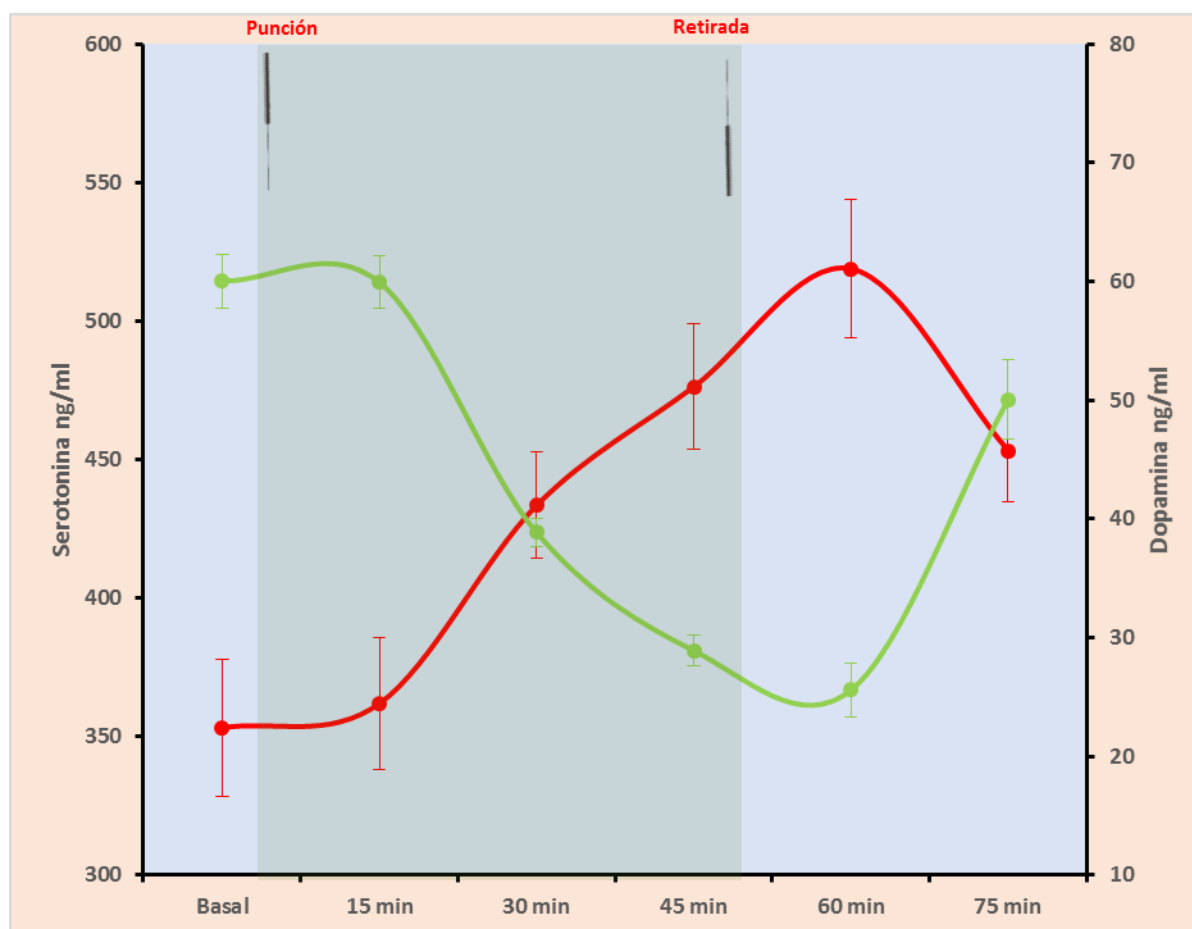
Gráfica 24.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de dopamina sérica (pg/ml) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Gráfica 21 se representa la interacción grupo x momento, en la que se observa que los valores de dopamina presentan una evolución muy similar en ambos grupos ( $p = 0,996$ ), descendiendo desde el momento 15' y, alcanzando su valor mínimo a los 60', siendo de  $26,79 \pm 3,93$  ng/ml para el grupo de los caballos enteros y de  $25,99 \pm 3,67$  pg/ml en el caso del grupo de los castrados, para ascender a los 75', pero sin llegar a alcanzar los valores de la toma basal. Al realizar el test de diferencia de medias entre los dos grupos, en cada uno de los

momentos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las medias ( $p > 0,05$ ).

En la gráfica 22 se describe la evolución de la dopamina, a lo largo del estudio, en el total de la población. Al realizar el test de Duncan de comparaciones múltiples, se puede observar que, la dopamina comienza a descender 15' después de la colocación de las agujas y alcanza sus valores mínimos en el momento 60' ( $25,59 \pm 2,26$  pg/ml), quince minutos después de retirar las agujas de acupuntura, presentando significación estadística con los valores medidos en los momentos basal; 15', 30' y 75' ( $60,03 \pm 2,25$  pg/ml;  $59,92 \pm 2,22$  pg/ml;  $38,84 \pm 1,16$  pg/ml y  $50,06 \pm 3,33$  pg/ml;  $p < 0,05$ ) y, no siendo significativamente diferente con el momento 45' ( $28,9 \pm 2,27$  pg/ml;  $p > 0,05$ ). Al final de la experimentación, esta hormona permanece significativamente más baja respecto a los valores iniciales ( $50,06 \pm 3,33$  pg/ml vs  $60,03 \pm 2,25$  pg/ml  $p < 0,05$ ).

En las gráficas 23 y 24, está representada la evolución de las concentraciones de dopamina, a lo largo del tiempo, en cada grupo de animales. En los dos grupos el descenso de las concentraciones de dopamina es más gradual que el observado en el total de la población, y el valor mínimo de dopamina también se observa en el momento 60'. La única diferencia reseñable que existe entre los grupos es que, en el grupo I, los valores de dopamina del momento 75' se elevan hasta valores que, aunque son más bajos, no son estadísticamente diferentes a los del momento basal ( $5,24 \pm 0,50$  pg/ml vs  $6,04 \pm 0,37$  pg/ml;  $p > 0,05$ ), mientras que en el grupo II, permanecen significativamente más bajos ( $4,89 \pm 0,46$  pg/ml vs  $6,02 \pm 0,36$  pg/ml;  $p < 0,05$ ).

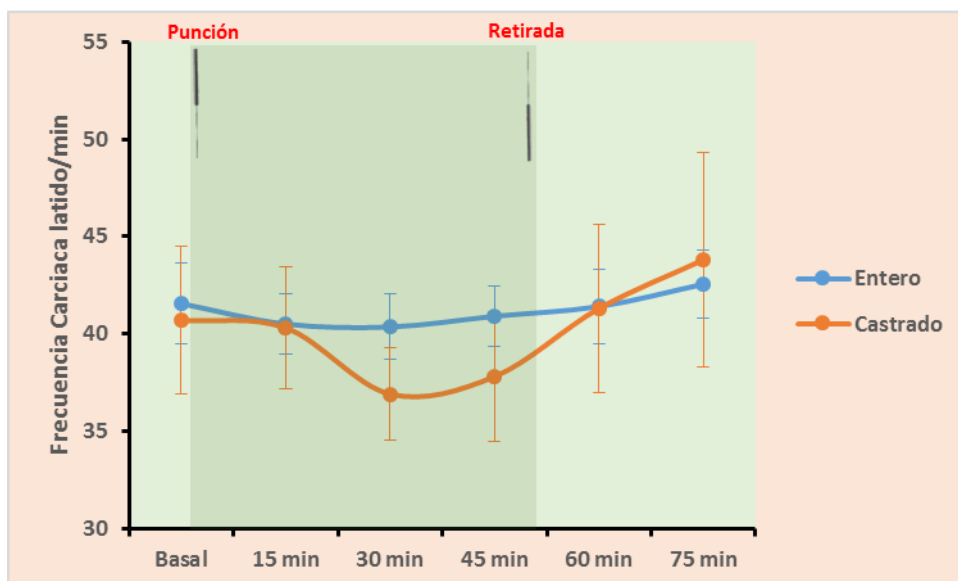


Gráfica 25.- Gráfica en línea donde se muestran los niveles de serotonina (ng/ml) y dopamina séricas (pg/ml) de ambos grupos y su evolución en el tiempo.

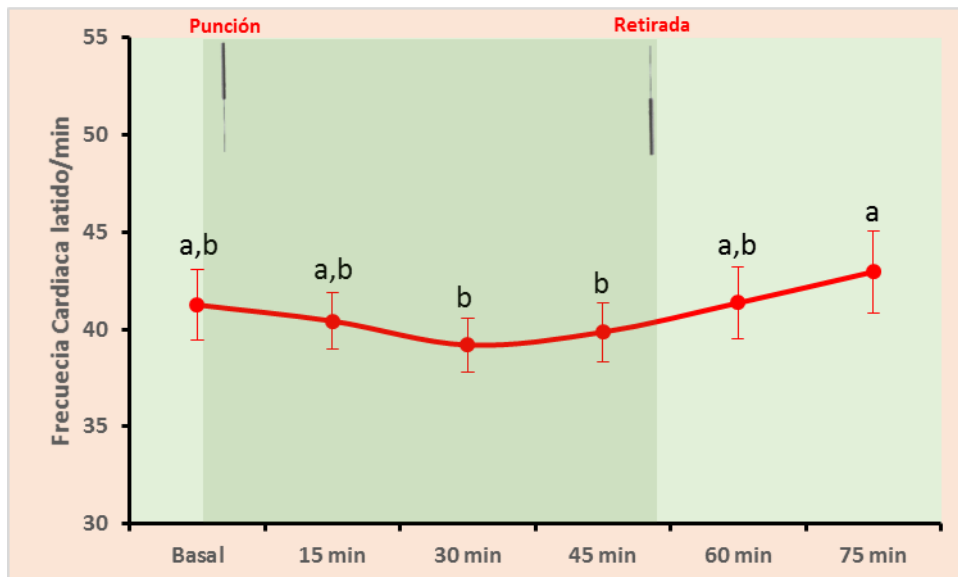
En la Gráfica 25 se representa la interacción de dos hormonas: serotonina y dopamina en los distintos momentos del estudio. Como se puede observar, el efecto del tratamiento de acupuntura hace que el perfil de estas hormonas sea antagónico ( $p < 0,05$ ): las concentraciones de dopamina disminuyen desde el momento de la punción mientras que las de serotonina se elevan. Durante el periodo en el que las agujas están colocadas, las concentraciones mínimas de dopamina y las máximas de serotonina se observan en el momento 45'. Quince minutos después de retirar las agujas (momento 60), es cuando se mide la mínima concentración de dopamina y la máxima concentración de serotonina. En ambas hormonas, el efecto del tratamiento de acupuntura persiste aún en el momento final de la experimentación, puesto que, como hemos señalado en la explicación de las gráficas 18 y 22 (evolución de las concentraciones de serotonina y dopamina a lo largo del tiempo del estudio), ninguna de las dos hormonas retorna a las concentraciones observadas en la toma basal.

## b.- Restantes variables cuantitativas

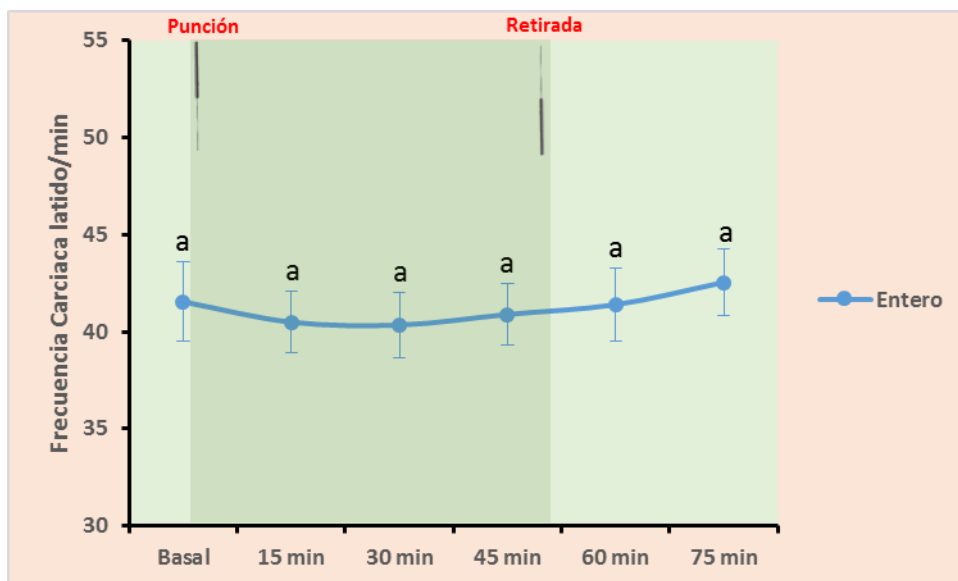
## i. Frecuencia cardiaca



Gráfica 26.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de frecuencia cardiaca (latido/min) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



Gráfica 27.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de frecuencia cardiaca (latido/min) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



Gráfica 28.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de frecuencia cardíaca (latido/min) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

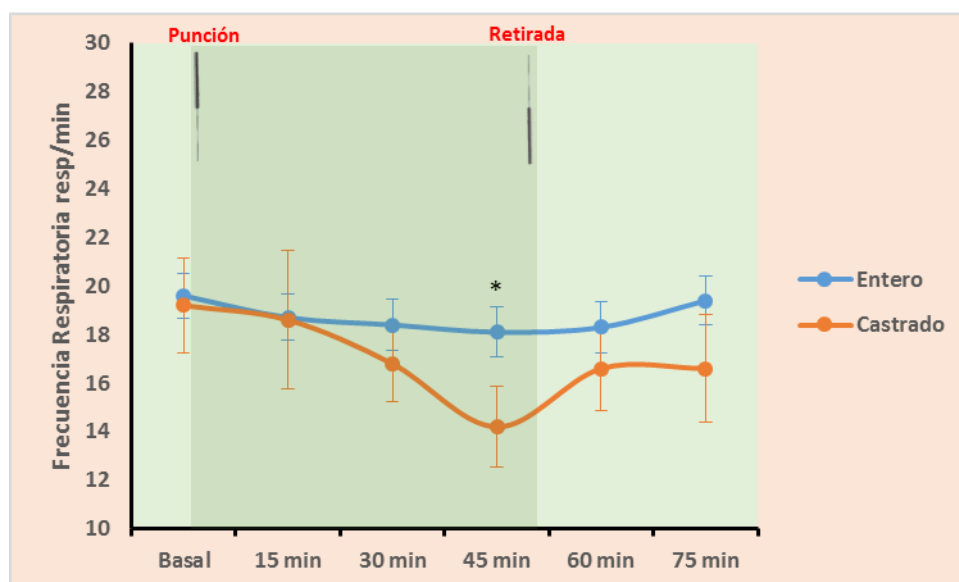


Gráfica 29.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de frecuencia cardíaca (latido/min) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

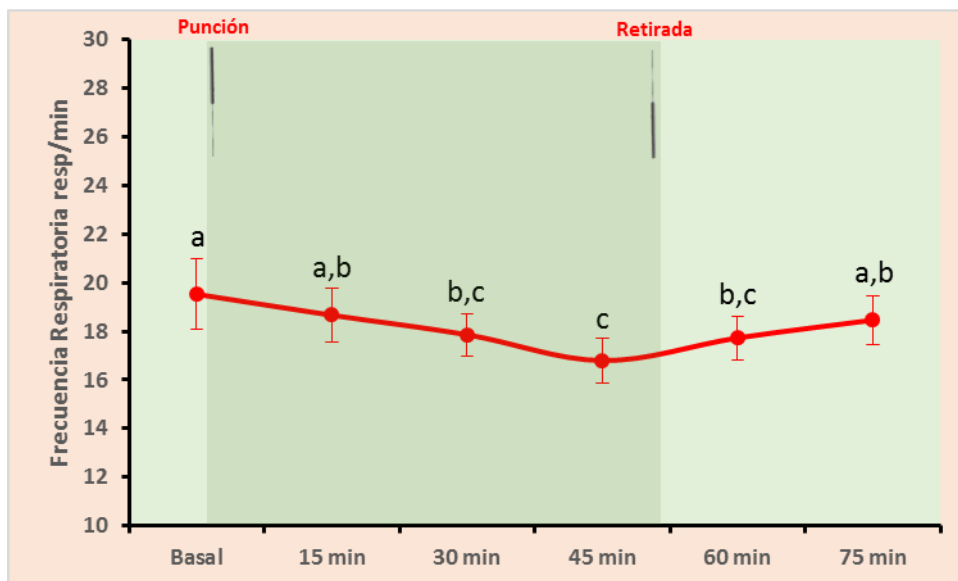
En las gráficas 26 a 29 se presentan los resultados de la frecuencia cardíaca (FC) medida a lo largo del estudio. La interacción grupo x momento muestra un comportamiento similar de la variable en ambos grupos, no existiendo diferencias significativas entre grupos en cada momento ( $p > 0,05$ ), probablemente debido a que existe una acusada variabilidad

individual. En ambos grupos se cuantifica un descenso de la FC a partir del momento de la punción que es estadísticamente significativo en los momentos 30' y 45' ( $p < 0,05$ ), respecto al resto de los momentos, alcanzando el mínimo valor en el momento 30' y, aumentando por encima de los valores basales en el último registro, aunque este valor no presente significación estadística ( $p = 0,587$ ). El descenso de la frecuencia cardíaca es más pronunciado en el grupo de los ejemplares castrados (Grupo II), cuya gráfica es idéntica a la del total de la población. En el grupo I (animales enteros), la disminución de la frecuencia cardíaca es tan pequeña durante el periodo de colocación de las agujas, que no existe significación estadística entre ninguno de los momentos del estudio.

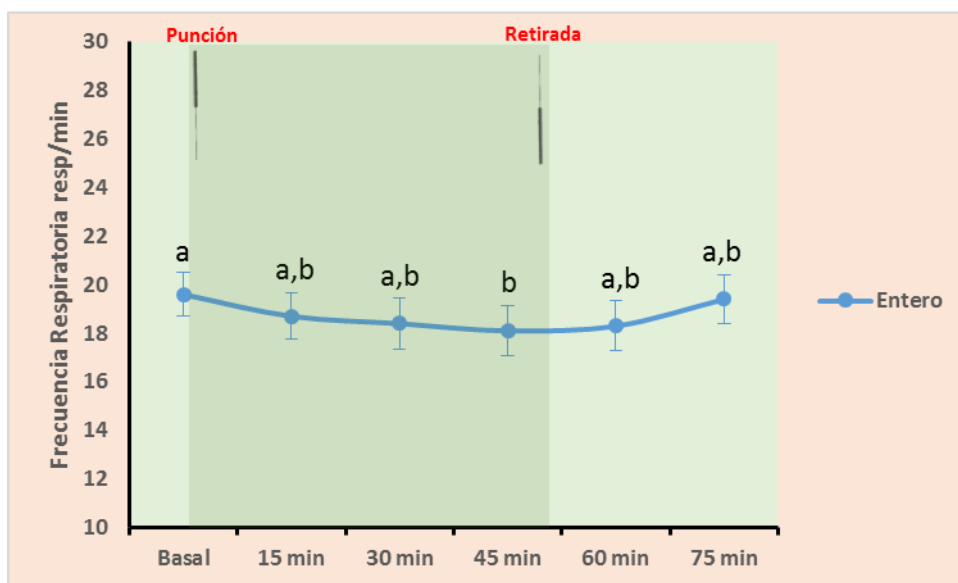
## ii. Frecuencia respiratoria



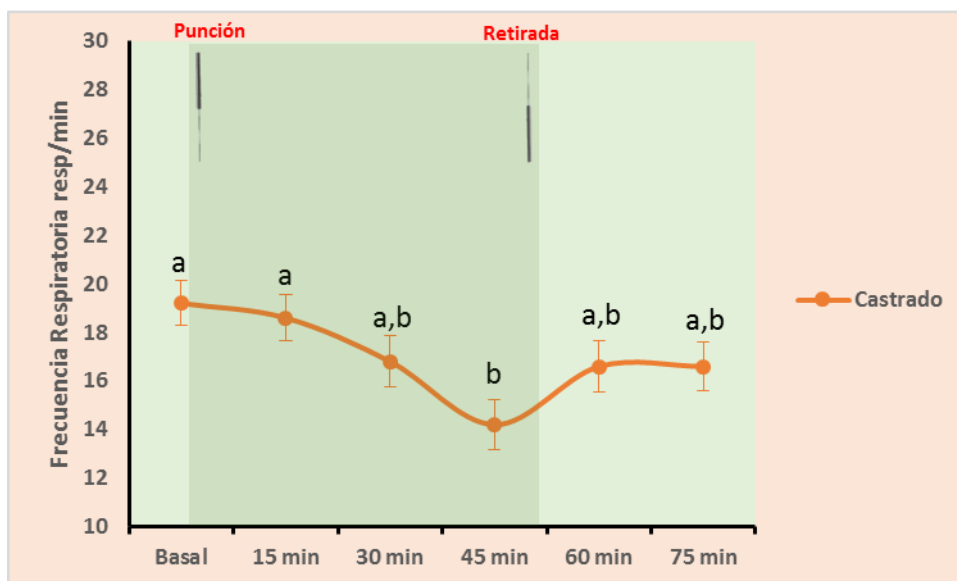
Gráfica 30.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de frecuencia respiratoria (resp/min) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



Gráfica 31.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de frecuencia respiratoria (resp/min) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



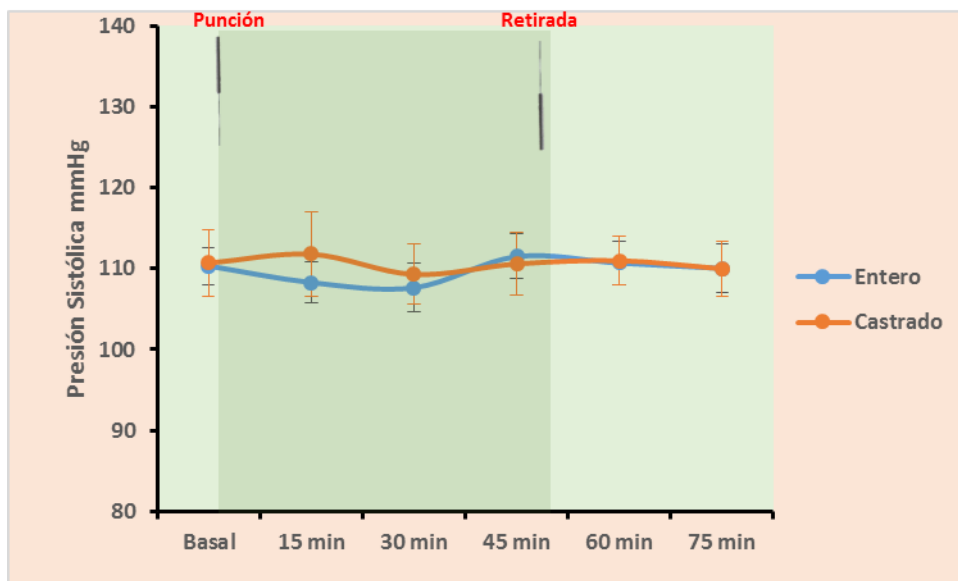
Gráfica 32.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de frecuencia respiratoria (resp/min) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



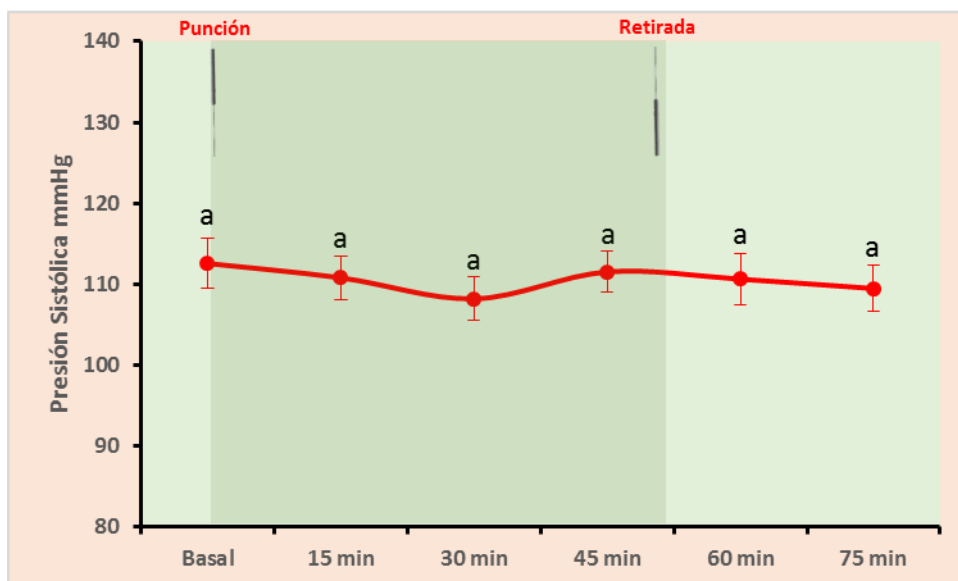
Gráfica 33.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de frecuencia respiratoria (resp/min) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

La evolución de la frecuencia respiratoria (FR) a lo largo del estudio se ha recogido en las gráficas 30 a 33. La interacción (grupo x momento) muestra que ambos grupos presentan un patrón similar ( $p > 0,05$ ) y, experimentan un descenso de la FR a partir del momento de la punción, mostrando diferencias estadísticamente significativa entre las medias del grupo I y II en el momento 45' ( $p < 0,05$ ). La evolución de la FR en el total de la población a lo largo de los momentos del estudio, muestra un descenso de sus valores como consecuencia del tratamiento de acupuntura, alcanzando valores mínimos en el momento 45' que, presentan significación estadística ( $p < 0,05$ ) con los momentos basal y final. En el momento 75', la frecuencia respiratoria permanece más baja que en la toma basal, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ). El efecto del tratamiento sobre la FR es más acusado en el grupo de animales castrados que, registra mayor descenso que el grupo de los caballos enteros, pero en ambos grupos el valor más bajo de FR se observa en el cuarto registro justo antes de la retirada de las agujas (momento 45'), valores que presentan significación estadística con la toma basal ( $p < 0,05$ ). En el caso del grupo I los valores de FR medidos en el momento 75', son superiores a los de la toma basal, mientras que en el grupo II permanecen por debajo de la toma inicial, pero en ningún caso, estos valores inicial y final presentan significación estadística ( $p > 0,05$ ).

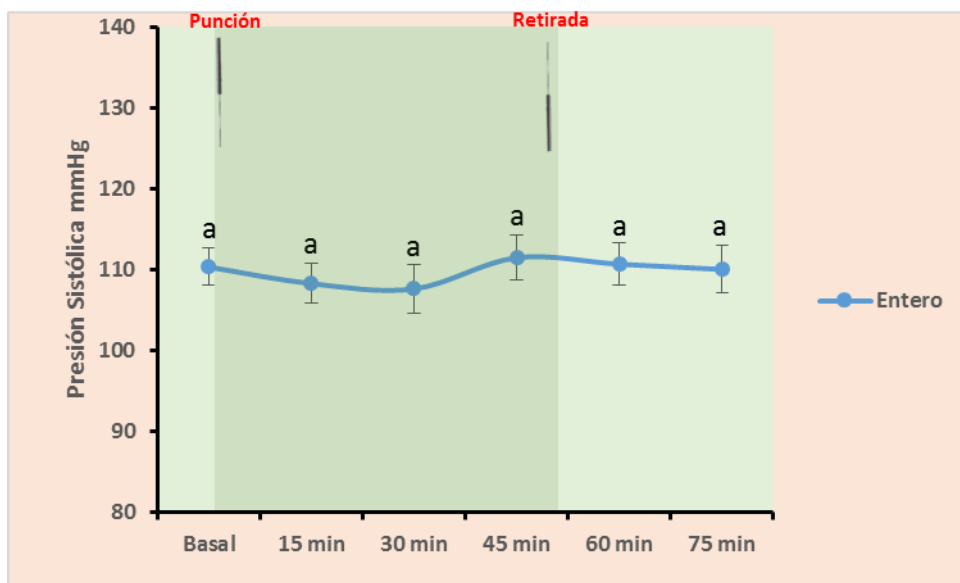
### iii. Presión arterial sistólica y diastólica



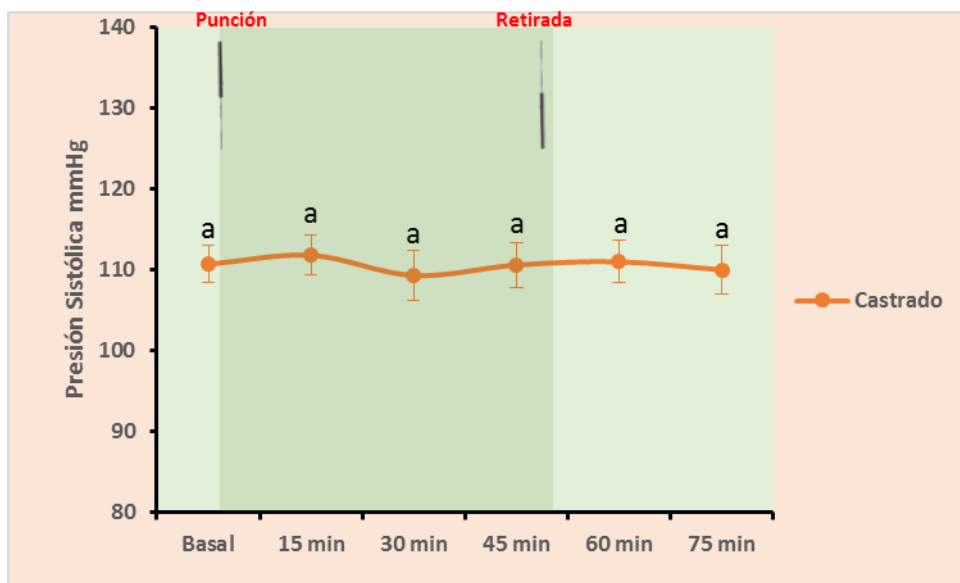
Gráfica 34.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de presión arterial sistólica (mm Hg) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



Gráfica 35.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de presión arterial sistólica (mm Hg) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

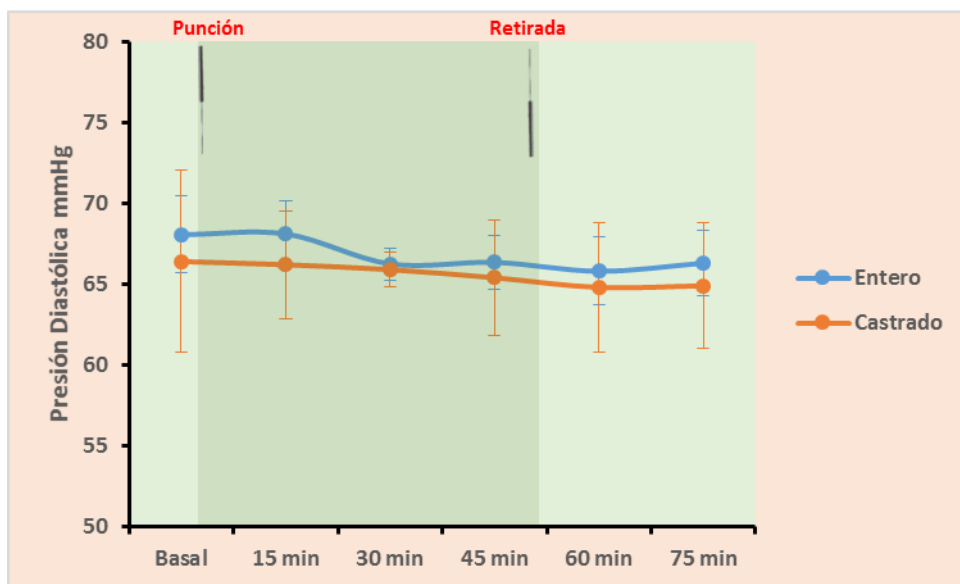


Gráfica 36.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de presión arterial sistólica (mm Hg) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

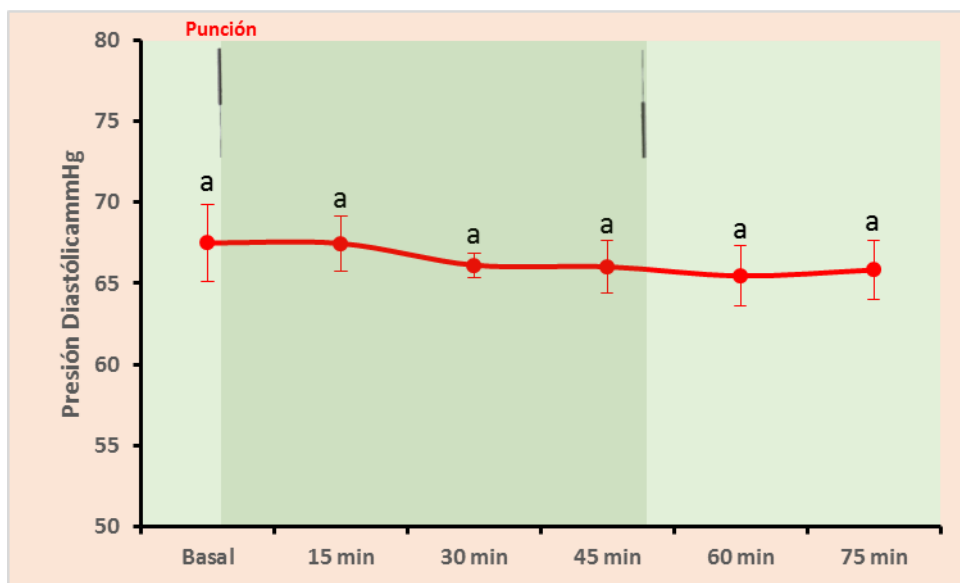


Gráfica 37.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de presión arterial sistólica (mm Hg) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

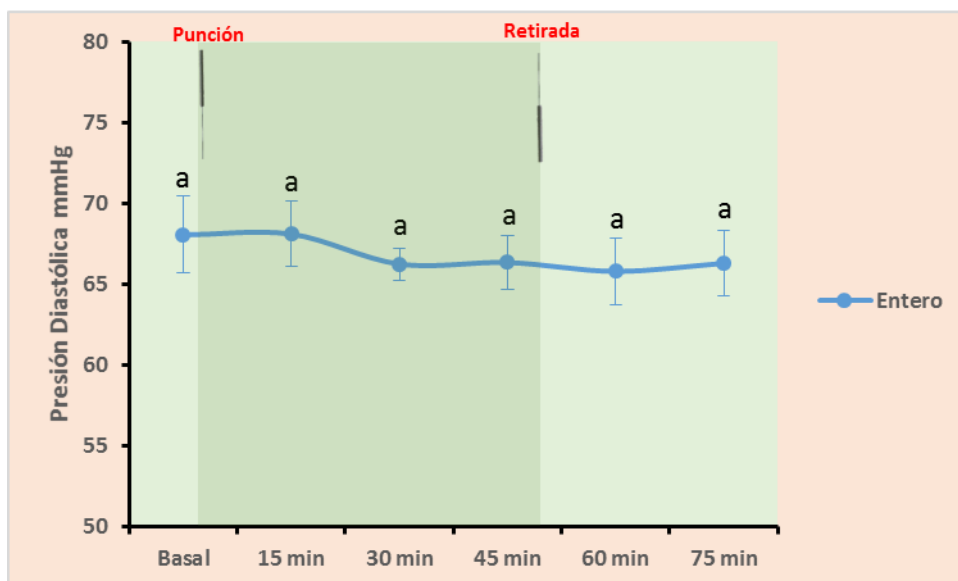
La evolución de la presión arterial sistólica (PAS) a lo largo del estudio, se ha recogido en las gráficas 34 a 37. La interacción (grupo x momento) muestra que, aunque la evolución de la PAS en ambos grupos es ligeramente distinta, esta interacción no es estadísticamente significativa ( $p= 0,488$ ), probablemente esto sea debido a la elevada variabilidad individual que se ha medido en los caballos de los dos grupos. La comparación de las medias de cada grupo, en cada momento, tampoco presenta significación estadística. La evolución de la PAS en el total de la población, a lo largo de los momentos del estudio, muestra un descenso de sus valores como consecuencia del tratamiento de acupuntura, alcanzando valores mínimos en el momento 30' para, posteriormente, elevarse en el momento 45' hasta niveles similares a los basales y volver a descender ligeramente, de tal forma que, en el momento 75', la PAS permanece más baja que en la toma basal. La comparación múltiple de las concentraciones de PAS a lo largo del tiempo muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas en ningún caso ( $p> 0,05$ ). El efecto del tratamiento sobre la PAS es distinto en cada uno de los grupos. En el grupo I, la PAS disminuye como consecuencia de la punción, alcanzando su valor mínimo en el momento 30', elevándose a valores superiores a los registrados en la toma basal en el momento 45' y descendiendo a valores similares a los basales al final de la experimentación. Cuando se realiza el test de comparaciones múltiples, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada momento, en ningún caso ( $p> 0,05$ ). En el grupo II, la PAS se eleva como consecuencia de la punción, alcanzando valores máximos en el momento 15', disminuye a valores mínimos en el momento 30', se recupera y en el momento 60', presenta valores similares a los medidos en el momento 15', terminando en valores ligeramente inferiores a los de la toma basal. Como en el caso del grupo I, cuando se realiza el test de comparaciones múltiples, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada momento, en ningún caso ( $p> 0,05$ ).



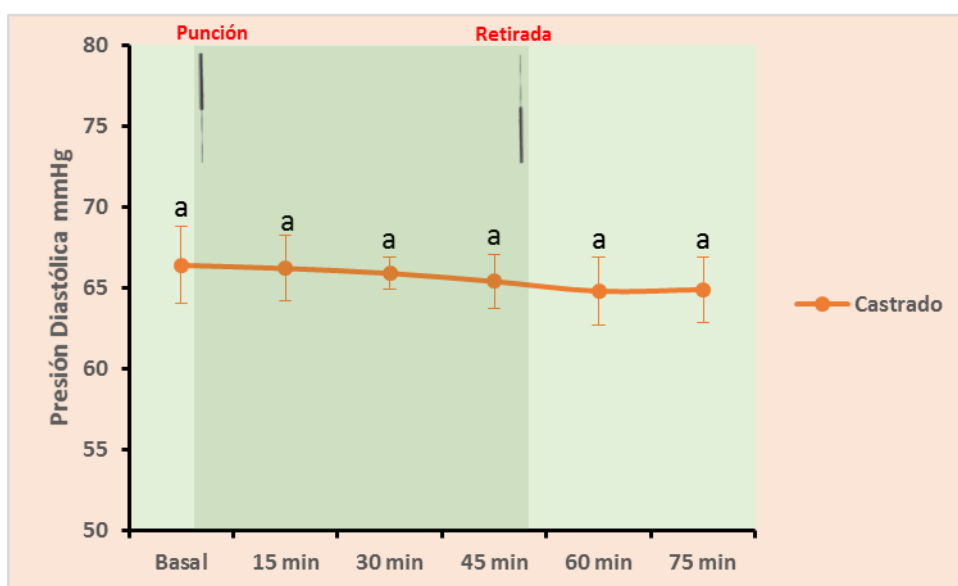
Gráfica 38.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de presión arterial diastólica (mm Hg) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



Gráfica 39.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de presión arterial diastólica (mm Hg) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



Gráfica 40.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de presión arterial diastólica (mm Hg) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

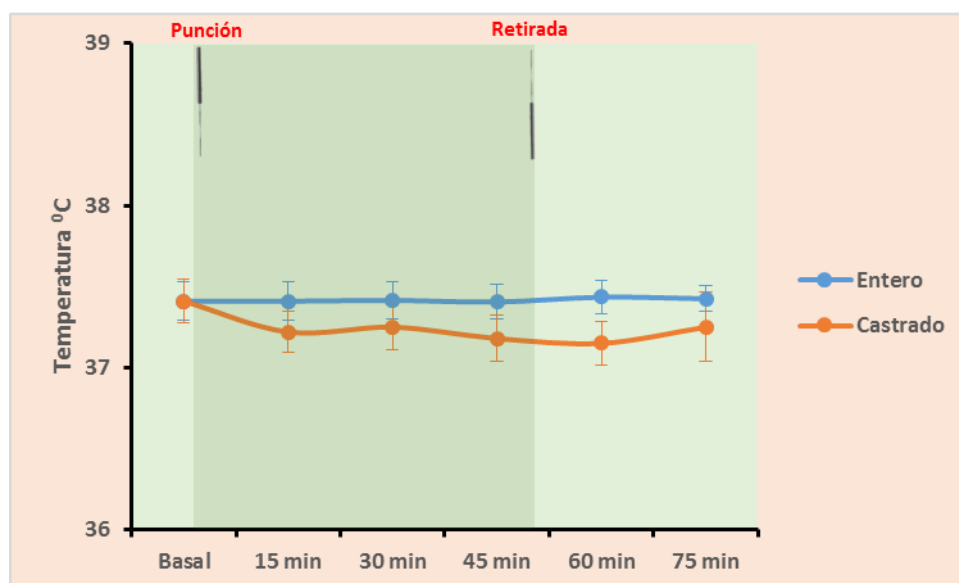


Gráfica 41.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de presión arterial diastólica (mm Hg) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

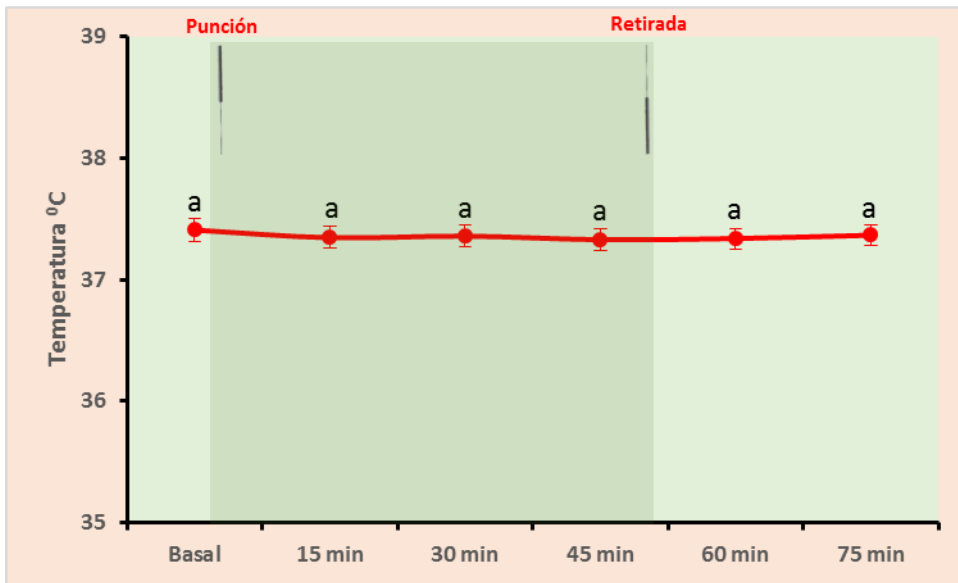
La evolución de la presión arterial diastólica (PAD) a lo largo del estudio, se ha recogido en las gráficas 37 a 41. La interacción grupo x momento muestra que, aunque la evolución de la PAD en ambos grupos es ligeramente distinta, no es estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ). La comparación de las medias de cada grupo en cada momento tampoco presenta significación estadística. La evolución de la PAD en el total de la población, a lo largo de los momentos del estudio, muestra un descenso de sus valores como

consecuencia del tratamiento de acupuntura, alcanzando valores mínimos en el momento 60' para, posteriormente, elevarse en el momento 75' pero manteniéndose en valores más bajos que en la toma basal. La comparación múltiple de las concentraciones de PAD a lo largo del tiempo muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas en ningún caso ( $p > 0,05$ ). El efecto del tratamiento sobre la PAD es ligeramente distinto en cada uno de los grupos. En el grupo I, la PAD aumenta como consecuencia de la punción en el momento 15', mientras que en el grupo II, la PAD disminuye. En los dos grupos los valores se igualan en el momento 30' y, alcanzan su valor mínimo en el momento 60'. Al final del estudio, los valores permanecen más bajos que los de la toma basal en ambos grupos. Cuando se realiza el test de comparaciones múltiples, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada momento, en ningún caso ( $p > 0,05$ ).

#### iv. Temperatura corporal



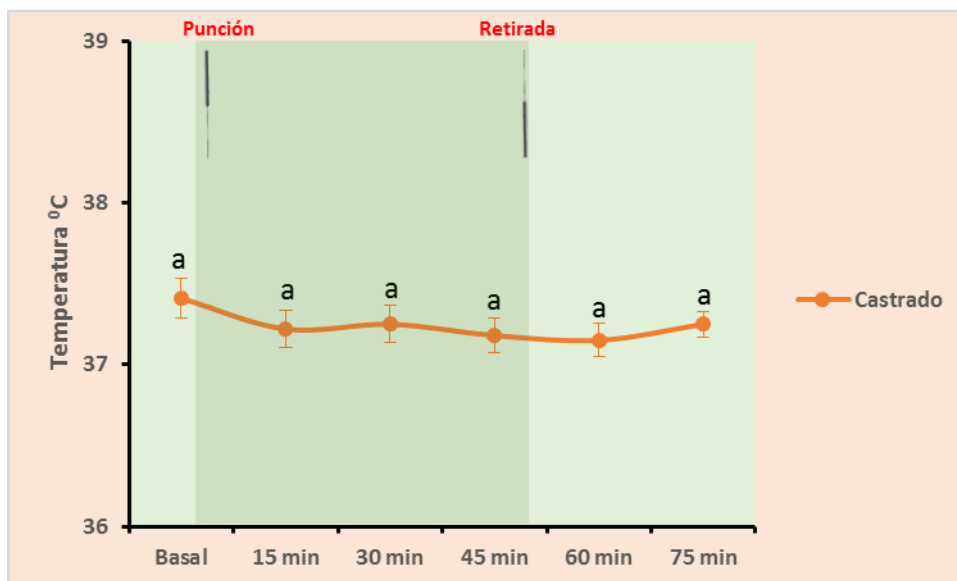
Gráfica 42.- Gráfica en línea donde se muestran los valores de temperatura corporal (°C) de los dos grupos de estudio, la interacción de los dos grupos según la evolución en el tiempo y las posibles diferencias entre los dos grupos en cada momento del experimento.



Gráfica 43.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de temperatura corporal (°C) de ambos grupos y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



Gráfica 44.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de temperatura corporal (°C) para el Grupo I y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).



Gráfica 45.- Gráfica en línea donde se muestra la media de los valores de temperatura corporal (°C) para el Grupo II y su evolución en el tiempo. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

En las Gráficas 42 a 45 está representada la evolución de la temperatura corporal. La interacción (grupo x momento) muestra que, esta variable evoluciona de forma similar en los dos grupos a lo largo del tiempo, siendo ligeramente superior durante todo el experimento en el grupo de animales enteros, aunque las diferencias entre los dos grupos no son significativas. Esta temperatura corporal ligeramente más elevada en el grupo I, podría deberse a las estaciones del año en las que se realizó el estudio, ya que en este grupo la experimentación se realizó en primavera y verano, mientras que en el grupo II se realizó en invierno. Sin embargo, la comparación de las medias de cada grupo en cada momento tampoco presenta significación estadística. Las comparaciones múltiples entre los momentos del estudio y en todos los casos: total de la población, Grupo I y Grupo II, demuestran que aunque la Temperatura corporal sufre pequeñas oscilaciones en todos los momentos del estudio, éstas no presentan significación estadística, por lo que el efecto de la acupuntura sobre esta variable es prácticamente inexistente.

### **c.- Variables cualitativas**

#### **i.- Constricción pupilar**

Con la constricción pupilar se valora el trabajo conjunto y equilibrado del Sistema Nervioso Autónomo, Simpático y Parasimpático. En el estudio realizado, hemos comprobado que la aplicación de las tres punciones de acupuntura, no produce ningún efecto sobre esta variable, en términos de inhibición y/o excitación del Sistema Nervioso Autónomo y, no se ha observado ninguna anomalía en la respuesta pupilar de los caballos. La respuesta obtenida en todos ellos ha sido correcta respecto a la velocidad y grado de contracción bilateral.

#### **ii. Activación urogenital e intestinal (AG)**

Se contempla por activación urogenital e intestinal:

Valor 0= no existe activación.

Valor 1= existe activación.

La activación urogenital e intestinal incluye:

- Relajación del pene.
- Micción.
- Defecación o estercolamiento.

Los animales pueden mostrar una o varias respuestas. Los resultados se van a expresar en gráficos de porcentajes del total de la población para cada momento, gráficos de porcentajes de cada grupo en cada momento y una tabla de comparaciones múltiples en la que se comparan los porcentajes de activación o no activación, en cada uno de los momentos del estudio, en el total de la población. Además, se señalarán de forma descriptiva, debido al tamaño de la muestra, los porcentajes de animales del estudio que presenten más de una respuesta y la combinación de éstas (por ejemplo: micción y defecación, micción y relajación del pene, etc.).

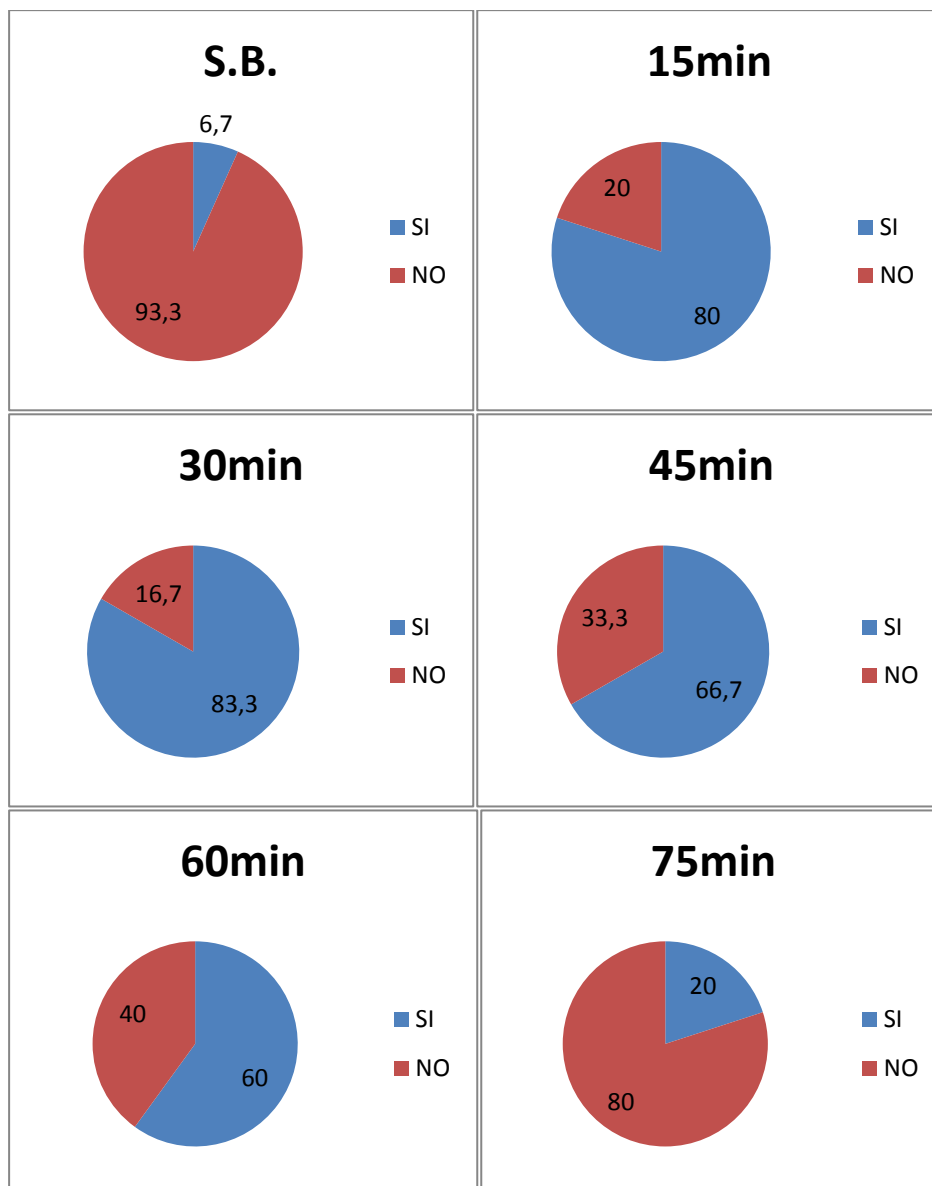


Grafico 1.- Gráficos circulares de porcentajes de la AG de ambos grupos, en los distintos momentos del estudio.

Se puede observar cómo al inicio del estudio sólo un 6,7% de los ejemplares son positivos en AG. Tras colocar las agujas de acupuntura, el porcentaje de ejemplares que sufren AG va incrementando, alcanzando el porcentaje máximo (83,3%) a los 30 minutos post-punción. Cuando se retiran las agujas, el porcentaje de caballos que sufren activación genital va descendiendo paulatinamente, alcanzando porcentajes de AG similares a los de la toma basal en el momento 75' (80%).

			MOMENTO						Total
			0:0	15:0	30:0	45:0	60:0	75:0	
AG	1,0	Recuento	2 <sub>a</sub>	24 <sub>b</sub>	25 <sub>b</sub>	20 <sub>b</sub>	18 <sub>b</sub>	6 <sub>a</sub>	95
		% dentro de MOMENTO	6,7%	80,0%	83,3%	66,7%	60,0%	20,0%	52,8%
	2,0	Recuento	28 <sub>a</sub>	6 <sub>b</sub>	5 <sub>b</sub>	10 <sub>b</sub>	12 <sub>b</sub>	24 <sub>a</sub>	85
		% dentro de MOMENTO	93,3%	20,0%	16,7%	33,3%	40,0%	80,0%	47,2%
Total		Recuento	30	30	30	30	30	30	180
		% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 7.- Evolución de la AG a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (AG \* Momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar la evolución de los porcentajes de AG a lo largo del tiempo, presentando significación estadística a los 15' ( $p < 0,05$ ) después de la punción, manteniéndose el efecto de las agujas sobre la AG hasta el momento 75' ( $p > 0,05$ ).

Los gráficos descriptivos de los porcentajes del tipo de AG, en cada momento, muestran que el efecto de la punción empleada, no es igual en todos los animales del estudio.

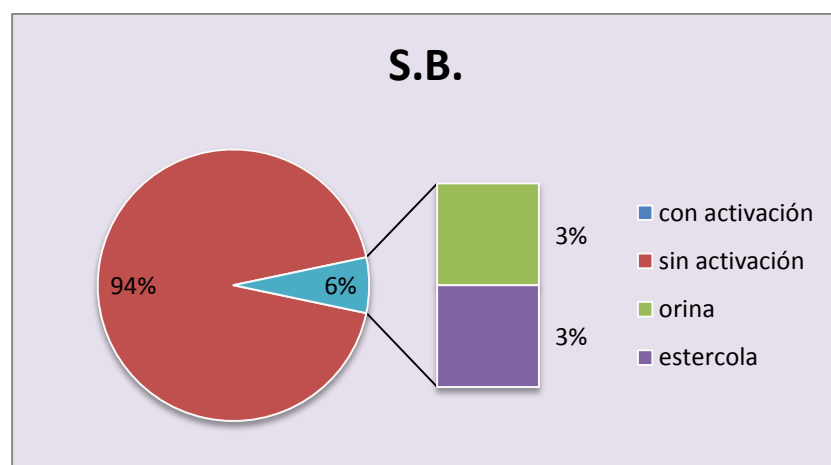


Grafico 2.- Gráfico circular con subgráfico de barras donde se registra la AG en la S.B.

En la toma basal, se observa poca activación, un ejemplar orinó y otro estercoló.

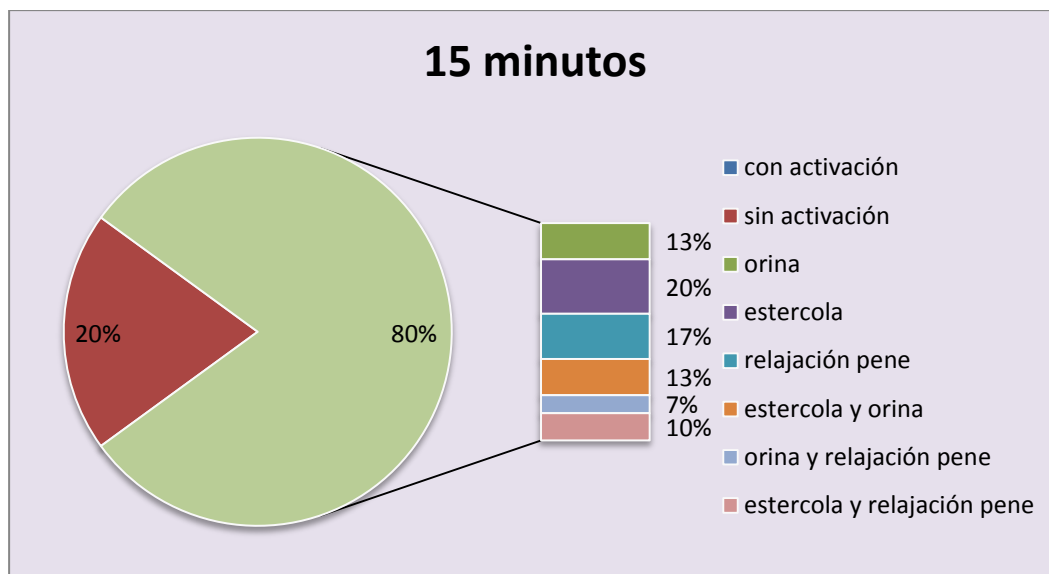


Grafico 3.- Grafico circular con subgráfico de barras donde se registra la AG 15 minutos después de realizar la punción de acupuntura.

La situación cambia completamente después de la aplicación de la acupuntura, puesto que en un 80% de los ejemplares se registró algún tipo de AG. Los valores más altos pertenecen a la defecación (20%) y a la relajación del pene (17%). Se observa también que, un porcentaje de animales presenta varias respuestas de activación genital: el 13% estercola y orina, el 7% presenta relajación del pene y micciona y un 10% presenta relajación del pene y estercola.

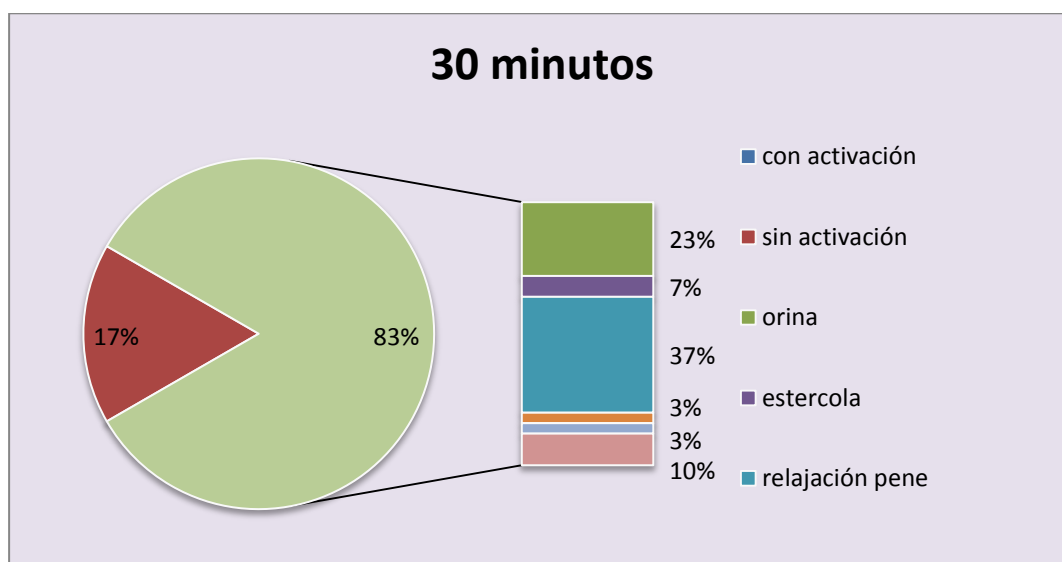


Grafico 4.- Grafico circular con subgráfico de barras donde se registra la AG genital 30 minutos después de realizar la punción de acupuntura.

Ya hemos señalado que, a los 30 minutos tras la punción se registran los valores más altos de la AG, destacando la relajación del pene en un 37% de los ejemplares. Un 10% de los ejemplares mostró actividad conjunta de relajación del pene y defecación por lo que en más del 47% de los ejemplares se observó la relajación del pene como signo de activación del SNAP. Además, en un 16% de los animales se registró más de una respuesta de AG.

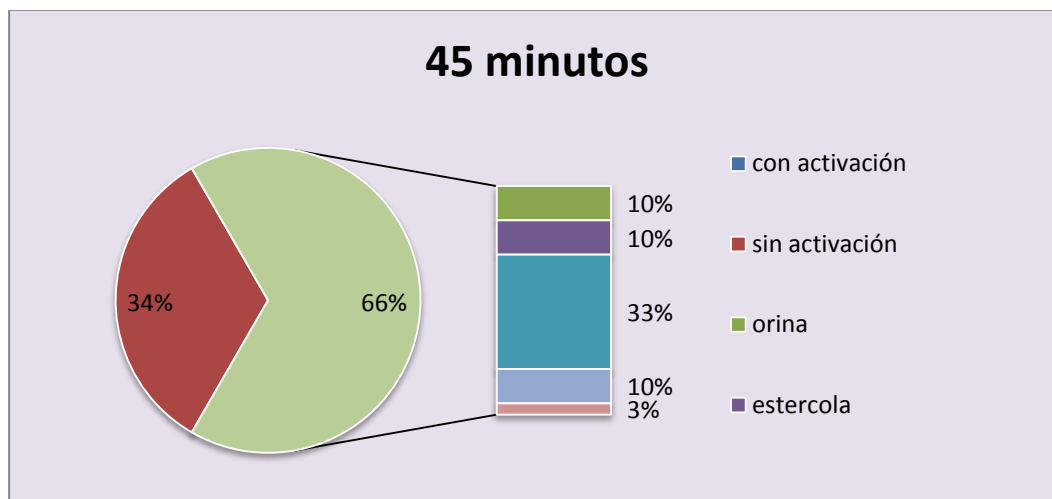


Grafico 5.- Gráfico circular con subgráfico de barras donde se registra la AG 45 minutos después de realizar la punción de acupuntura.

En este cuarto registro, realizado antes de la retirada de las agujas, se observa que, hay un descenso de, aproximadamente, el 15% de la AG, pero sigue siendo la relajación del pene el signo más común en los ejemplares. Se da en más del 43% de los animales del estudio. La frecuencia de animales que presentan más de una respuesta de AG disminuye hasta el 13%.

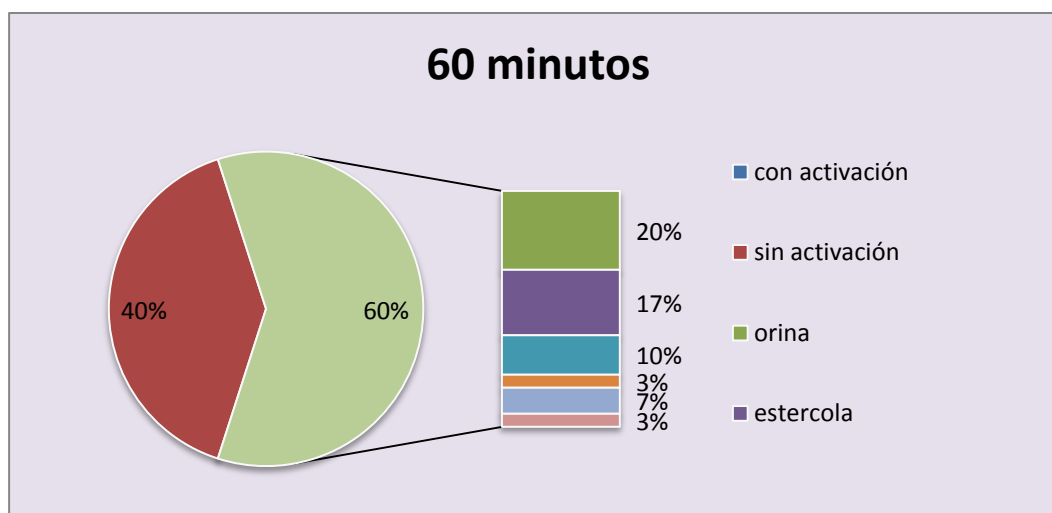


Gráfico 6.- Gráfico circular con subgráfico de barras donde se registra la AG 60 minutos después de realizar la punción de acupuntura.

Quince minutos después de la retirada de las agujas (momento 45´) se mantiene la actividad genital en un 60% de los ejemplares, en esta ocasión aparecen valores muy cercanos entre la defecación y la micción, con una diferencia del 3%. Los valores de la relajación del pene han descendido hasta el 10%. Hay caballos que muestran signos combinados con la relajación del pene, el sumatorio de estos valores aporta otro 10% de animales que mostraron relajación del pene con otros signos de AG. Aun así en este registro sólo un 20% de los animales mostró relajación del pene.

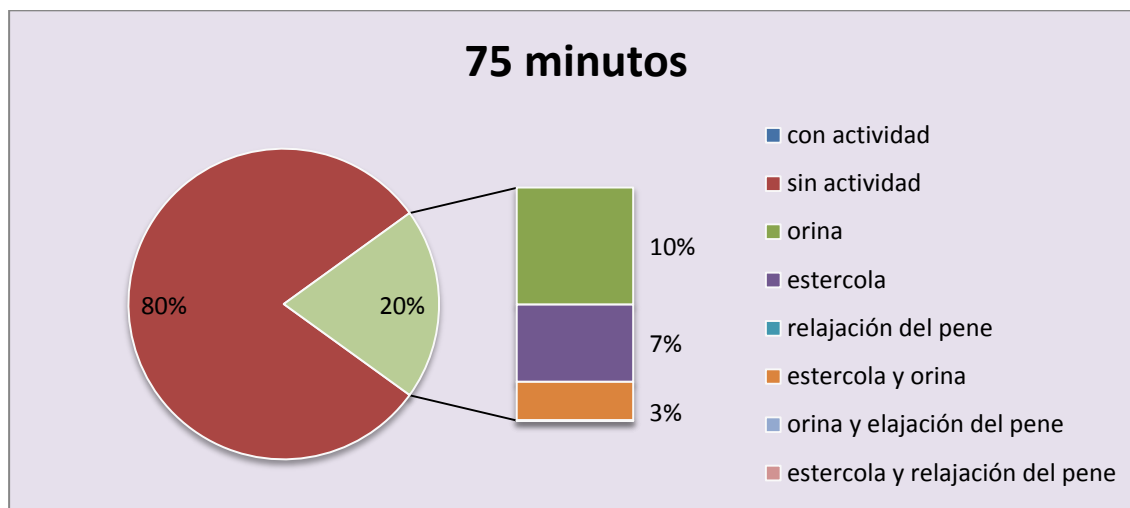


Gráfico 7.- Gráfico circular con subgráfico de barras donde se registra la AG 75 minutos después de realizar la punción de acupuntura.

Finalmente en este último registro ningún ejemplar presentó relajación del pene. Un 10% orinó y un 7% estercoló.

El Test de exactitud de Fisher, no muestra ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos de estudio, en cada momento (en todos los casos analizados  $p > 0,05$ ), aunque sí podemos observar que la respuesta a la punción de acupuntura, es ligeramente distinta en ambos grupos. En el caso del grupo II a los 30 minutos se observa un 100% de AG, mientras que en el grupo I solo es del 75%, manteniéndose este porcentaje en el momento 45´. A los 45 minutos los porcentajes de AG están igualados en el grupo II. A los 15 minutos de la retirada de las agujas (momento 60´), todavía se observa que la AG es más acusada en el grupo II, con un porcentaje del 70%. A los 75 minutos, los porcentajes de AG de ambos grupos se igualan.

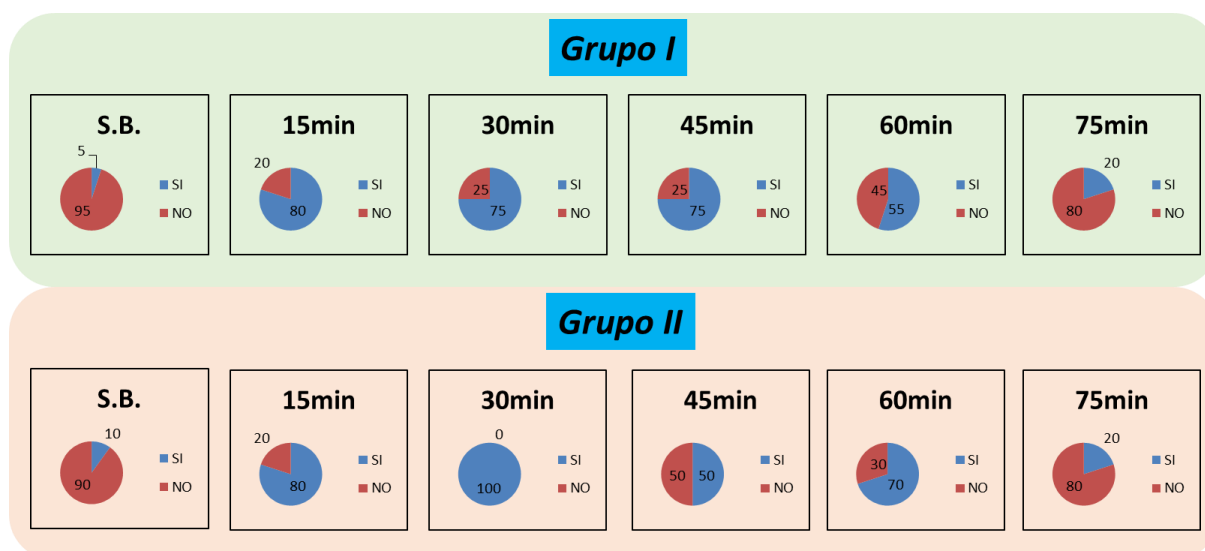


Gráfico 8.- Gráficos circulares de porcentajes de la AG de cada grupo, en cada momento del estudio.

Valorando la AG de una forma global se puede observar que, la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP aumenta en más de un 70% de los ejemplares tras la realización de la punción de acupuntura. A los 30 minutos, cuando se registran los valores más altos de activación genital, la respuesta más destacada es la relajación del pene.

Con el paso del tiempo, tras retirar las agujas, se observa un descenso importante de los signos de AG, similar a los de la situación basal, habiendo desaparecido en todos los ejemplares la relajación del pene.

### iii. Posición de la cabeza

En la posición de la cabeza, las opciones que se contemplan en función del estado de los caballos son:

Valor 0= cabeza baja. El caballo está relajado.

Valor 1= cabeza normal.

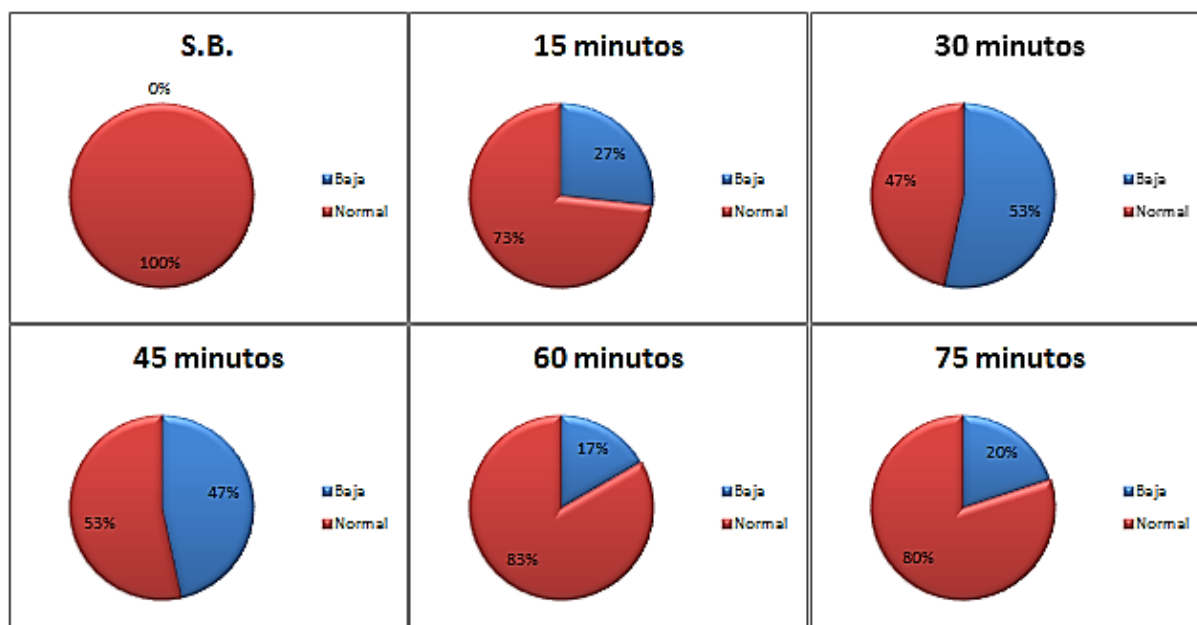


Gráfico 9.- Gráficos circulares de porcentajes para mostrar la posición de la cabeza de ambos grupos, en los distintos momentos del estudio.

		MOMENTO						Total	
		0:0	15:0	30:0	45:0	60:0	75:0		
CABEZA	0,0	Recuento	0 <sub>a</sub>	8 <sub>b, c</sub>	16 <sub>c</sub>	14 <sub>b, c</sub>	5 <sub>a, b</sub>	6 <sub>a, b, c</sub>	49
		% dentro de MOMENTO	0,0%	26,7%	53,3%	46,7%	16,7%	20,0%	27,2%
	1,0	Recuento	30 <sub>a</sub>	22 <sub>b, c</sub>	14 <sub>c</sub>	16 <sub>b, c</sub>	25 <sub>a, b</sub>	24 <sub>a, b, c</sub>	131
		% dentro de MOMENTO	100,0%	73,3%	46,7%	53,3%	83,3%	80,0%	72,8%
Total		Recuento	30	30	30	30	30	30	180
		% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 8.- Evolución de la posición de la cabeza a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (cabeza \* momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

Una posición baja de la cabeza es un indicativo de estado de relajación de un caballo, durante la S.B. todos los ejemplares se encontraban en un estado normal, observando el medio y atentos a su manejo. Tras la realización de la punción, los ejemplares fueron mostrando signos objetivos de relajación, a los 15 minutos el 27% de los caballos mostraba una posición de la cabeza baja y relajada, este porcentaje aumentó hasta llegar a los 30 minutos postpunción, produciéndose esta relajación en más de la mitad de los ejemplares (53%). Tras

la retirada de las agujas, este efecto se va perdiendo, paulatinamente, y los ejemplares se fueron mostrando más despiertos pero sin llegar a estar nerviosos ni inquietos. En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar la evolución de los porcentajes de la posición de la cabeza a lo largo del tiempo, presentando significación estadística a los 15' ( $p < 0,05$ ) después de la punción. Como ya se ha señalado, el efecto de las agujas es más acusado en el momento 30', en el que el porcentaje de animales con la cabeza relajada es el más elevado ( $p < 0,05$ ) manteniéndose el efecto de las agujas hasta el momento 75', aunque ya no presente significación estadística ( $p > 0,05$ ).

El test de exactitud de Fisher muestra que existen diferencias estadísticamente significativas, para esta variable, entre los porcentajes de los dos grupos, en cada momento del estudio.

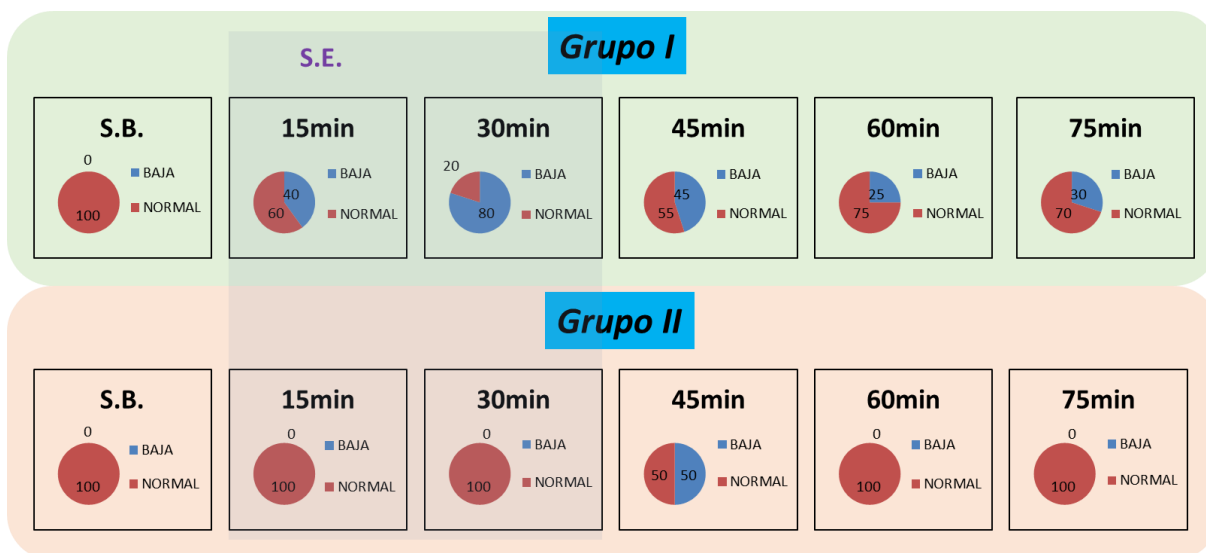


Gráfico 10.- Gráficos circulares de porcentajes de la posición de la cabeza de cada grupo, en cada momento del estudio.

En situación basal los dos grupos presentan el mismo comportamiento, el 100% de los caballos presenta la cabeza en posición normal. A los 15' se observa que la punción comienza a hacer efecto en el grupo I, con un porcentaje de relajación de la cabeza del 40% ( $p < 0,03$ ) alcanzando el máximo porcentaje de relajación a los 30 minutos (80%,  $p < 0,0001$ ), mientras que el grupo I no presenta signos de relajación, manteniendo el 100% de los ejemplares la cabeza en posición normal. A los 45' sí se observa el efecto de la acupuntura en el grupo I, con un 50% de los ejemplares con la cabeza relajada. Al comparar los porcentajes entre ambos grupos, se comprueba que estos son muy similares, no presentando significación estadística ( $p = 1,00$ ). A los 60 y 75 minutos, el 100% de los ejemplares del grupo II vuelve a presentar la cabeza en posición normal, mientras que, en el grupo I, se observa que el efecto

del tratamiento se va perdiendo y solo el 25% y el 30%, respectivamente, de los caballos presentan signos de relajación. La comparación entre ambos grupos muestra que no existe significación estadística (momento 60':  $p=0,14$ , momento 75':  $p>0,07$ ).

Valorando la posición de la cabeza de una forma global se puede decir que, la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP se observa de forma muy acusada en el grupo I, sobre todo en el momento 30', en el que el 80% de los ejemplares muestra la cabeza en posición relajada. Es muy importante destacar que el efecto de la acupuntura en el grupo II, respecto a la relajación de la cabeza, es poco acusado y solo se observa en el momento 45' que, coincide con la retirada de las agujas. Por tanto, las variaciones que experimenta esta variable, en relación con el total de la población, son debidas al efecto que presenta la acupuntura en el grupo I. A los 30 minutos tras retirar las agujas se observa un descenso importante de la relajación de la cabeza en el grupo I, mientras que el grupo II ha vuelto a recuperar un 100% de ejemplares con la cabeza en posición normal.

#### **iv. Posición de las orejas**

En la posición de las orejas, las opciones que se contemplan en función del estado del caballo son:

Valor 0= relajadas. El caballo está relajado.

Valor 1= atentas. Pendiente del medio que le rodea.

Valor 2= replegadas. El ejemplar está tenso.

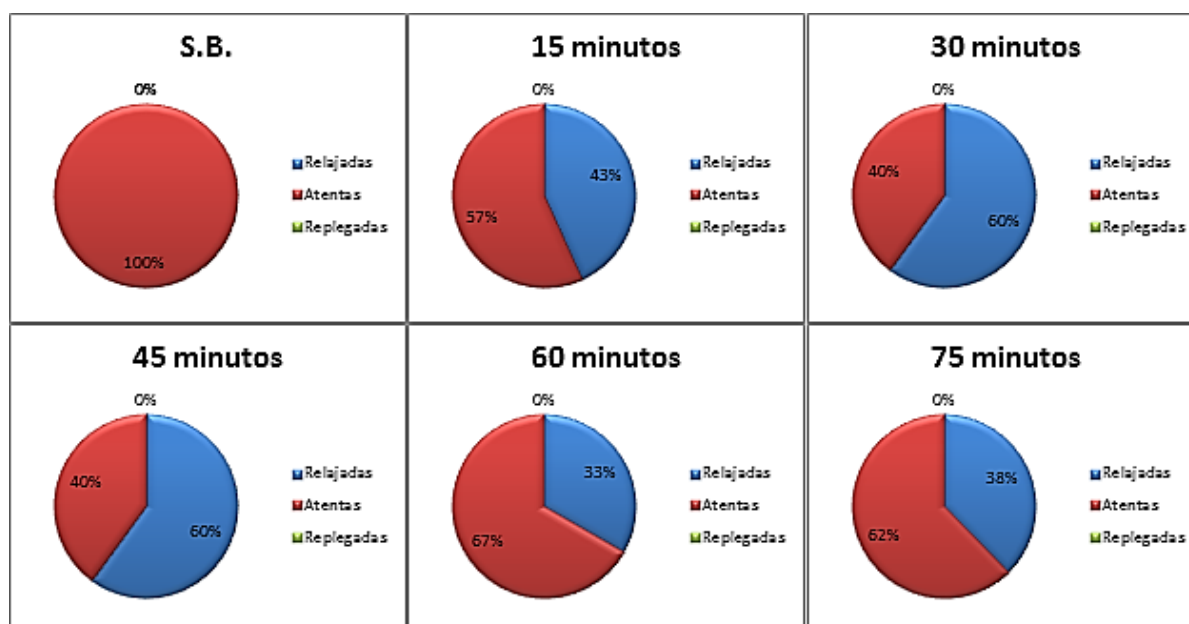


Gráfico 11.- Gráficos circulares de porcentajes para mostrar la posición de las orejas, en los distintos momentos del estudio.

		MOMENTO						Total	
		0:0	15:0	30:0	45:0	60:0	75:0		
OREJAS	0,0	Recuento	0 <sub>a</sub>	13 <sub>b</sub>	18 <sub>b</sub>	18 <sub>b</sub>	10 <sub>b</sub>	9 <sub>b</sub>	68
		% dentro de MOMENTO	0,0%	43,3%	60,0%	60,0%	33,3%	30,0%	37,8%
	1,0	Recuento	30 <sub>a</sub>	17 <sub>b</sub>	12 <sub>b</sub>	12 <sub>b</sub>	20 <sub>b</sub>	21 <sub>b</sub>	112
		% dentro de MOMENTO	100,0%	56,7%	40,0%	40,0%	66,7%	70,0%	62,2%
Total		Recuento	30	30	30	30	30	30	180
		% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0 %

Tabla 9.- Evolución de la posición de las orejas a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (orejas \* momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

Al inicio del estudio el 100% de los ejemplares estaban con las orejas atentas a nosotros y a nuestros movimientos, a los 15 minutos tras la punción casi la mitad de ellos (43%) se encontraban relajados y, sin muestras de preocupación por el entorno o nuestras actividades. Esta conducta se mantuvo hasta el final del estudio, siendo especialmente marcado en el tercer y cuarto registro antes de la retirada de las agujas. En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar la evolución de los

porcentajes de la posición de las orejas a lo largo del tiempo, presentando significación estadística a los 15' ( $p < 0,05$ ) después de la punción. Como ya se ha señalado, el efecto de las agujas es más acusado en el momento 30', en el que el porcentaje de animales con las orejas relajadas es el más elevado ( $p < 0,05$ ) manteniéndose el efecto de las agujas incluso hasta el momento 75' ( $p < 0,05$ ), en el que todavía un porcentaje significativo de caballos mantenía las orejas relajadas.

El test de exactitud de Fisher muestra que existen diferencias estadísticamente significativas para esta variable, entre los porcentajes de los dos grupos, en los momentos 60' y 75' del estudio ( $p < 0,01$ ).

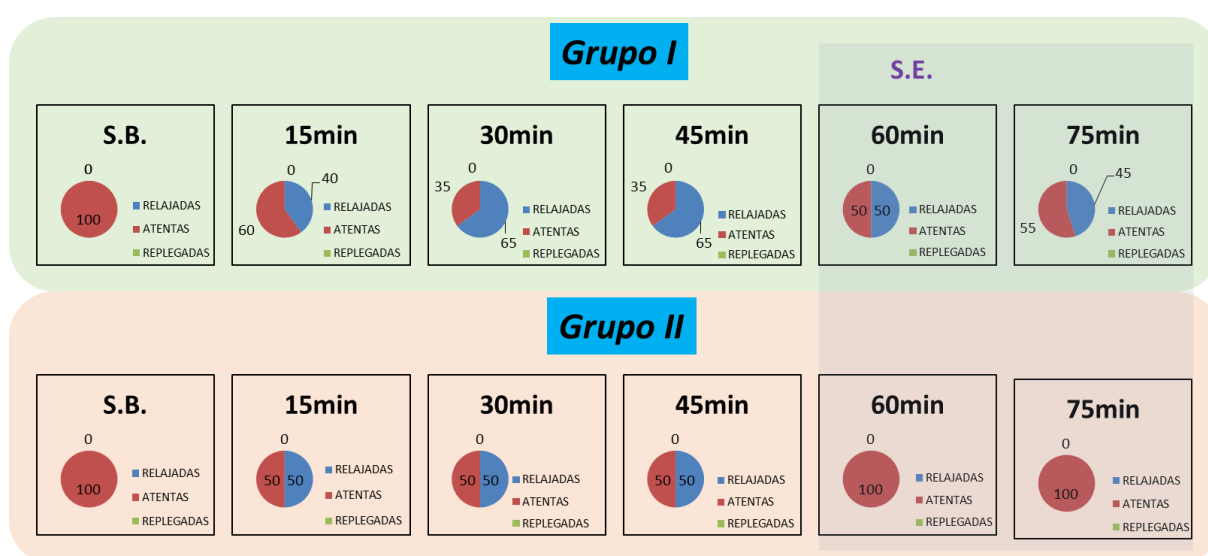


Gráfico 12.- Gráficos circulares de porcentajes de la posición de las orejas de cada grupo, en cada momento del estudio.

El efecto de la relajación de las orejas se observa en los dos grupos a los 15 minutos después de la punción y, aunque las diferencias no son significativas ( $p = 0,70$ ), se observa que el efecto del tratamiento es más acusado en los caballos del grupo I presentando un 65% de estos las orejas relajadas en los momentos 30' y 45' ( $p = 0,46$ ). Además, el efecto es más sostenido en el grupo I, puesto que todavía un 45% de los ejemplares presentan las orejas relajadas en el momento 75' ( $p < 0,01$ ), mientras que en los caballos de grupo II el efecto del tratamiento ha desaparecido en el momento 60' ( $p < 0,01$ ).

Valorando la posición de las orejas de una forma global se puede observar de nuevo que, la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP se observan de forma más acusada en el grupo I, manteniéndose los efectos del tratamiento en un porcentaje

significativo de los caballos de este grupo a los 75 minutos (45%,  $p < 0,001$ ), mientras que estos han desaparecido totalmente en el grupo II a los 60 minutos (100%,  $p < 0,01$ ).

### v. Gesto de la boca

En el gesto de la boca, las opciones que se contemplan en función del estado del caballo son:

Valor 0= relajada. El caballo está relajado.

Valor 1= normal.

Valor 2= tenso. Presentan tensión en los labios.

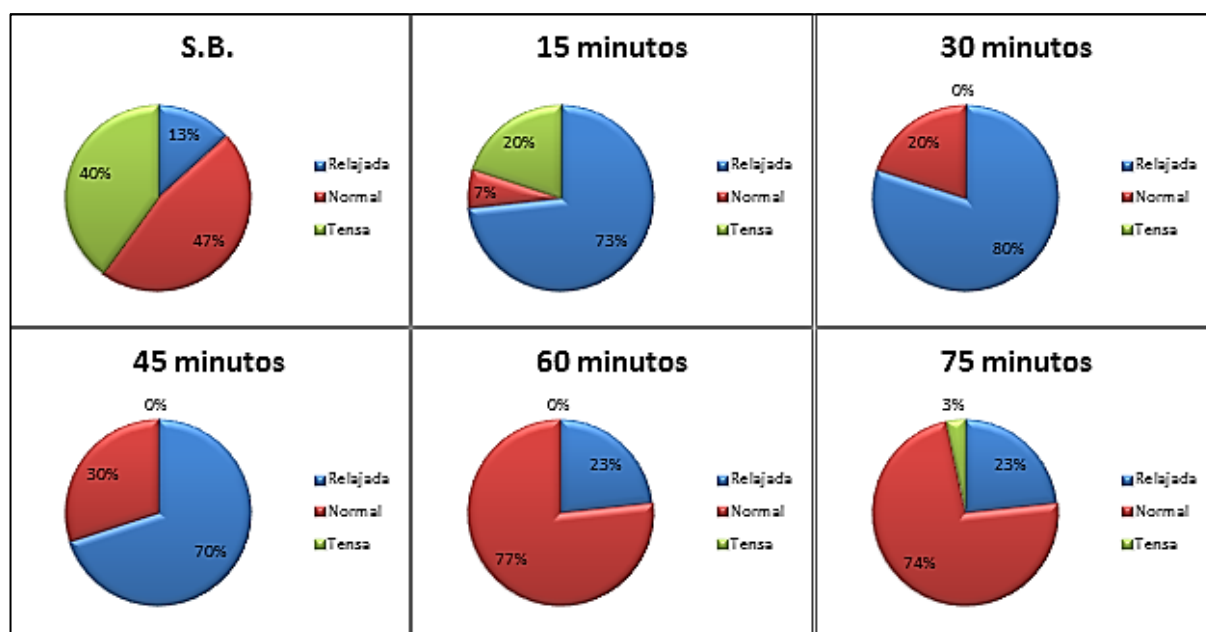


Gráfico 13.- Gráficos circulares de porcentajes del gesto de la boca de ambos grupos, en los distintos momentos del estudio.

		MOMENTO						Total	
		0:0	15:0	30:0	45:0	60:0	75:0		
BOCA	0,0	Recuento	4 <sub>a</sub>	22 <sub>b</sub>	24 <sub>b</sub>	21 <sub>b</sub>	7 <sub>a</sub>	7 <sub>a</sub>	85
		% dentro de MOMENTO	13,3%	73,3%	80,0%	70,0%	23,3%	23,3%	47,2%
	1,0	Recuento	14 <sub>a, b</sub>	2 <sub>c</sub>	6 <sub>b, c</sub>	9 <sub>b, c</sub>	23 <sub>a</sub>	22 <sub>a</sub>	76
	% dentro de MOMENTO	46,7%	6,7%	20,0%	30,0%	76,7%	73,3%	42,2%	
	2,0	Recuento	12 <sub>a</sub>	6 <sub>a, b</sub>	0 <sub>b</sub>	0 <sub>b</sub>	0 <sub>b</sub>	1 <sub>b</sub>	19
	% dentro de MOMENTO	40,0%	20,0%	0,0%	0,0%	0,0%	3,3%	10,6%	
Total	Recuento	30	30	30	30	30	30	180	
	% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabla 10.- Evolución del gesto de la boca a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (boca \* momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

En el caso del gesto de la boca, los ejemplares fueron mostrando signos de relajación con el tiempo, al comienzo un 40% de los ejemplares mostraba tensión en la boca, mientras que un 13% presentaba la boca relajada y un 47% normal. Tras la punción este gesto fue cambiando alcanzando un porcentaje del 80% de animales con el labio inferior relajado en el momento 30' y un 70% en el momento 45'. Posteriormente, los porcentajes de relajación fueron descendiendo hasta un 37% en el momento 60'. Aunque los caballos no tenían signos de nerviosismo, sólo un 20% mostraba claros signos de relajación en el gesto de la boca al final del estudio. En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar la evolución de los porcentajes de la posición de la boca a lo largo del tiempo.

El efecto del tratamiento de acupuntura sobre esta variable ya presenta significación estadística en el momento 15' ( $p < 0,05$ ), manteniéndose esta tendencia hasta el momento 60' en el que se pierde esta significación ( $p > 0,05$ ) aunque todavía un 23,3% de los caballos mantenga la boca relajada. La tensión de la boca se pierde completamente con la administración del tratamiento, puesto que, en situación basal un 40% de los caballos presentaban esta característica, desapareciendo totalmente desde el momento 30' hasta el 60' ( $p < 0,05$ ) pasando a posición relajada o normal. En el momento 75' solo un 3% de los caballos presentaba tensión en la boca ( $p < 0,05$ ). Por lo que respecta a la posición normal, en situación basal un 46,7% de los caballos presentaba esta característica, descendiendo hasta un

6,7% en el momento 15' ( $p < 0,05$ ), manteniéndose la significación estadística en los momentos 30' y 45' con porcentajes del 20 y 30%, respectivamente ( $p < 0,05$ ), subiendo estos porcentajes hasta un 73,3% en el momento 75', manteniéndose la significación estadística con los porcentajes observados durante el periodo de colocación de las agujas ( $p < 0,05$ ).

El test de exactitud de Fisher muestra que existen diferencias estadísticamente significativas para esta variable, entre los porcentajes de los dos grupos, que pasamos a describir a continuación.

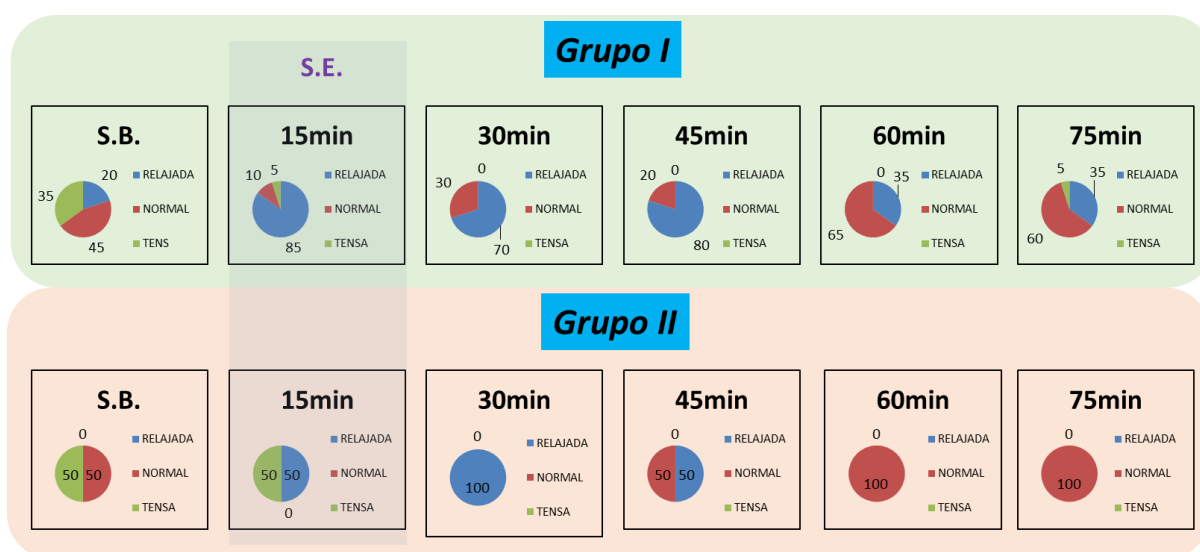


Gráfico 14.- Gráficos circulares de porcentajes del gesto de la boca de cada grupo, en cada momento del estudio.

En la toma basal un 20% de los caballos del grupo I presentan una relajación del labio, respecto a un 50% del grupo II, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa ( $p = 0,40$ ). El efecto del tratamiento de acupuntura es más acusado en el grupo I a los 15 minutos, alcanzándose porcentajes de relajación de la boca del 85%, mientras que el grupo II presenta un 50% de caballos con la boca relajada, pero el otro 50% la mantiene tensa. En esta toma se observa significación estadística entre los dos grupos ( $p < 0,01$ ). A los 30 minutos, un 100% de los ejemplares del grupo II presentan una relajación de la boca, mientras que en el grupo I un 70% de los caballos presenta la boca relajada y el resto en posición normal. En esta toma se pierde la significación estadística ( $p > 0,07$ ). A los 45 minutos se observa el mayor efecto del tratamiento sobre el grupo I, alcanzándose un 80% de caballos que presentan relajación de la boca, manteniendo el resto una posición normal. En el grupo II, la mitad de la población presenta la boca relajada y la otra mitad en posición normal. La comparación de los porcentajes entre los dos grupos tampoco presenta significación estadística ( $p > 0,07$ ). El

efecto del tratamiento ha desaparecido completamente en el grupo II a los 60 minutos, mientras que el grupo I todavía presenta un 35% de ejemplares con la boca relajada. La comparación de los porcentajes entre los dos grupos tampoco presenta significación estadística ( $p > 0,07$ ).

Valorando el gesto de la boca de una forma global podemos decir que, la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP se observan de forma acusada en ambos grupos, aunque en distintos momentos, alcanzando un 100% de relajación el grupo II, en el momento 30', mientras que el efecto del tratamiento es más acusado en el grupo I en el momento 45', aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas en los dos momentos ( $p > 0,07$ ). Los efectos del tratamiento desaparecen, completamente, en el grupo I a los 60 minutos, mientras que todavía un pequeño porcentaje de caballos del grupo I (35%) mantiene la boca relajada.

#### **vi. Gesto de los ollares**

En el gesto de los ollares, las opciones que se contemplan son:

Valor 0= relajado. El caballo está relajado.

Valor 1= normal.

Valor 2= tenso. Los ollares están abiertos y ligeramente retraídos.

Al comienzo del estudio más del 50% de los ejemplares mostraban los ollares abiertos y tensos y sólo un 17% de los caballos se mostraban con esta zona relajada. A los 15 minutos postpunción se observa un aumento de este porcentaje a favor de las muestras de relajación de esta zona. A los 30 minutos tras la punción se observó que, el 60% de los ejemplares daban muestras de relajación en los ollares y no hubo ningún ejemplar con tensión en la zona hasta el cuarto registro. A los 15 minutos (momento 60') después de retirar las agujas, sólo el 27% de ellos mostraba relajación en la zona de estudio, posteriormente este valor aumento en un 3% en el último registro. En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar la evolución de los porcentajes del gesto de los ollares a lo largo del tiempo. El efecto del tratamiento de acupuntura sobre la relajación de los ollares ya presenta significación estadística en el momento 15' ( $p < 0,05$ ) que se pierde en el momento 60' ( $p > 0,05$ ) pero, al final del tratamiento, todavía un 30% de los caballos mantiene esta zona relajada. La tensión en esta zona se pierde completamente en los momentos 15' y 30' y,

aunque se recupera, ligeramente, en un porcentaje de animales, se mantiene la significación estadística en todos los momentos. Los caballos comienzan con un porcentaje de ollares en posición normal del 26,7%, porcentaje que aumenta de forma no significativa ( $p > 0,05$ ) en los momentos 15' y 30', observándose un mínimo del 20 %, no significativo, en el momento 45' ( $p > 0,05$ ) para aumentar significativamente en los dos últimos momentos, finalizando con un 66,7% de los animales con los ollares en posición normal ( $p < 0,05$ ).

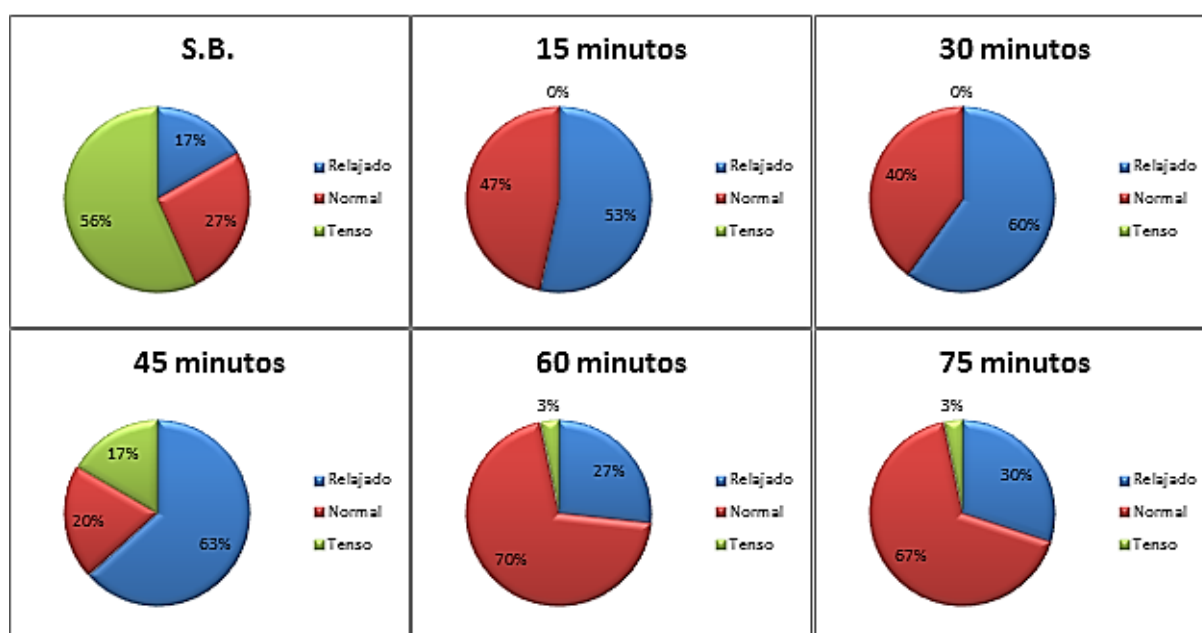


Gráfico 15.- Gráficos circulares de porcentajes de ambos grupos para mostrar el gesto de los ollares, en los distintos momentos del estudio.

			MOMENTO					Total	
			0:0	15:0	30:0	45:0	60:0		75:0
OLLARES	0,0	Recuento	5 <sub>a</sub>	16 <sub>b</sub>	18 <sub>b</sub>	19 <sub>b</sub>	8 <sub>a, b</sub>	9 <sub>a, b</sub>	75
		% dentro de MOMENTO	16,7%	53,3%	60,0%	63,3%	26,7%	30,0%	41,7%
	1,0	Recuento	8 <sub>a</sub>	14 <sub>a, b</sub>	12 <sub>a, b</sub>	6 <sub>a</sub>	21 <sub>b</sub>	20 <sub>b</sub>	81
		% dentro de MOMENTO	26,7%	46,7%	40,0%	20,0%	70,0%	66,7%	45,0%
	2,0	Recuento	17 <sub>a</sub>	0 <sub>b</sub>	0 <sub>b</sub>	5 <sub>b</sub>	1 <sub>b</sub>	1 <sub>b</sub>	24
		% dentro de MOMENTO	56,7%	0,0%	0,0%	16,7%	3,3%	3,3%	13,3%
Total		Recuento	30	30	30	30	30	30	180
		% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 11.- Evolución del gesto de los ollares a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (ollares \* momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

El test de exactitud de Fisher también muestra diferencias significativas entre grupos en los distintos momentos del experimento.

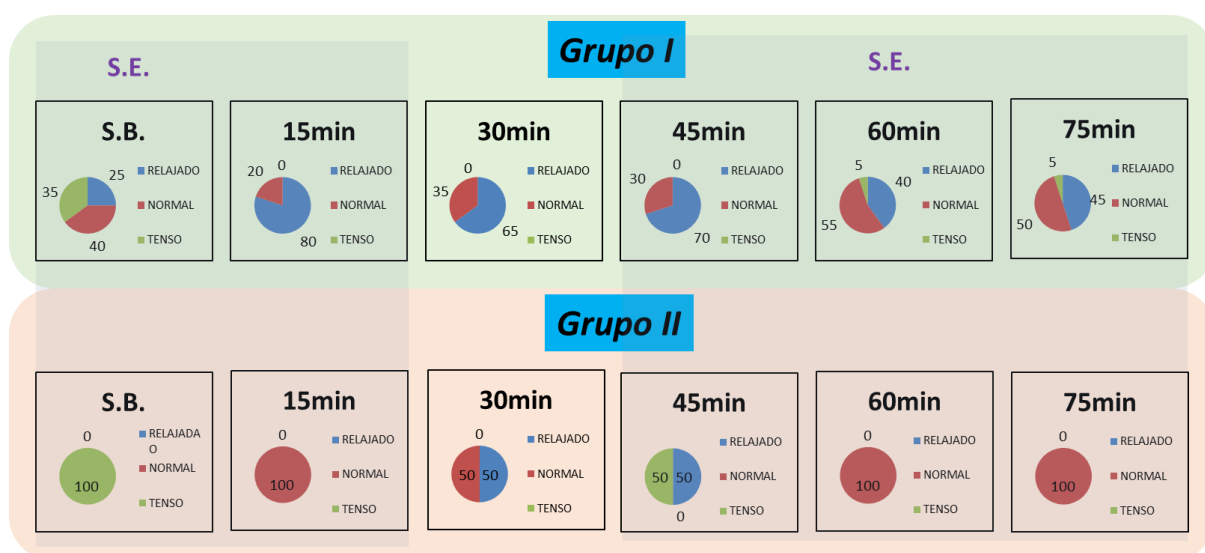


Gráfico 16.- Gráficos circulares de porcentajes de los gestos de los ollares de cada grupo, en los distintos momentos del estudio.

En la situación basal, un 100% de los caballos del grupo II presenta tensión en los ollares, mientras que los porcentajes de las tres opciones de esta variable están muy repartidas en el grupo I. Al realizar la comparación de porcentajes entre grupos, se observa una elevada significación estadística entre ambos ( $p < 0,0001$ ). El efecto del tratamiento se comienza a observar en el grupo I a los 15 minutos, alcanzando el mayor porcentaje de caballos con los ollares relajados (80%). Estos porcentajes se mantienen elevados hasta la retirada de las agujas (45 minutos), descendiendo a los 60 y 75 minutos hasta porcentajes del 45%. El resto de los ejemplares de este grupo mantiene los ollares en posición normal, excepto un pequeño porcentaje (5%) que los mantiene en tensión a los 60 y 75 minutos. El efecto del tratamiento es menos acusado en el grupo II. A los 15 minutos tras la punción, el 100% de los caballos muestran los ollares en posición normal. A los 30 minutos después de la punción, el 50% de los caballos presentan los ollares relajados y el otro 50% en posición normal. A los 45 minutos post-punción el 50% de los ejemplares mantiene la relajación de los ollares, pero el otro 50% los presenta en tensión. Desde los 60 minutos post-punción el efecto del tratamiento desaparece y el 100% de los caballos presenta los ollares en posición normal. Al realizar la comparación estadística entre grupos se observa que existe significación en los momentos 45' ( $p < 0,001$ ), 60' ( $p < 0,03$ ) y 75' ( $p < 0,01$ ), no existiendo en el momento 30': 65% de relajación en el grupo I vs 50% de relajación en el grupo II ( $p = 0,46$ ).

Valorando el gesto de los ollares de una forma global podemos decir que, la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP se observan de forma acusada en ambos grupos, aunque en distintos momentos, alcanzando un 80% de relajación el grupo I, en el momento 15' ( $p < 0,0001$ ), mientras que grupo II solo alcanza un 50% de relajación en los momentos 30' ( $p = 0,46$ ) y 45' ( $p < 0,001$ ). El efecto del tratamiento se pierde en el grupo II a los 60 minutos, mientras que el grupo I mantiene un 40% de ejemplares con los ollares relajados ( $p < 0,03$ ). Al final del tratamiento todavía un 45% de los caballos del grupo I mantiene esta zona relajada.

#### **vii. Gesto de los ojos**

En el gesto de los ojos, las opciones que se contemplan en función del estado del caballo son:

Valor 0= relajado. El caballo está relajado.

Valor 1= normal.

Valor 2= tenso. El ojo se encuentra muy abierto y activo.

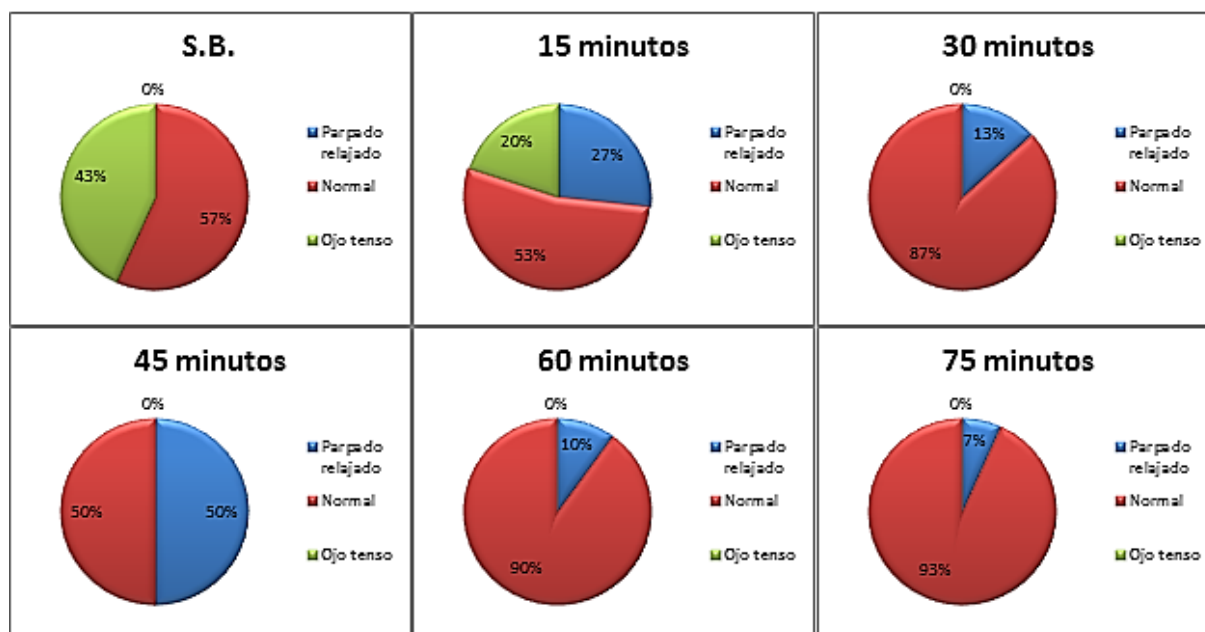


Gráfico 17.- Gráficos circulares de porcentajes de ambos grupos, para mostrar el gesto del ojo y párpado, en los distintos momentos del estudio.

		MOMENTO						Total	
		0:0	15:0	30:0	45:0	60:0	75:0		
OJO S	0,0	Recuento	0 <sub>a</sub>	8 <sub>b, c, d</sub>	4 <sub>a, d</sub>	15 <sub>c</sub>	3 <sub>a, b, d</sub>	2 <sub>a, b, d</sub>	32
		% dentro de MOMENTO	0,0%	26,7%	13,3%	50,0%	10,0%	6,7%	17,8%
	1,0	Recuento	17 <sub>a, b, c, d</sub>	16 <sub>b, d</sub>	26 <sub>c, d, e</sub>	15 <sub>b</sub>	27 <sub>a, c, e</sub>	28 <sub>e</sub>	129
	% dentro de MOMENTO	56,7%	53,3%	86,7%	50,0%	90,0%	93,3%	71,7%	
	2,0	Recuento	13 <sub>a</sub>	6 <sub>a, b</sub>	0 <sub>b</sub>	0 <sub>b</sub>	0 <sub>b</sub>	0 <sub>b</sub>	19
	% dentro de MOMENTO	43,3%	20,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	10,6%	
Total	Recuento	30	30	30	30	30	30	180	
	% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabla 12.- Evolución del gesto de los ojos a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (ojos \* momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

Al comienzo del estudio un 43% de los ejemplares mostraban los ojos muy abiertos. A los 15 minutos postpunción se observa un que un 27% de los caballos ya presentaba una relajación en el gesto de los ojos y solo un 20% permanecía con ellos abiertos y alerta. A los 30 minutos tras la punción se observó que, la tensión en el gesto de los ojos había

desaparecido en todos los ejemplares, pero solo el 13% de estos presentaba signos de relajación. El mayor porcentaje de caballos con el ojo relajado se observa en el momento 45', en el que el 50% de la población presenta signos de relajación de los ojos. A los 15 minutos después de retirar las agujas (momento 60') sólo el 10% de ellos mostraba relajación en los párpados y, posteriormente, este valor disminuyó hasta un 7% en el último registro. Hay que resaltar que la tensión en los párpados desapareció 30 minutos después de aplicar el tratamiento de acupuntura. En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar la evolución de los porcentajes del gesto de los ojos a lo largo del tiempo. El efecto del tratamiento de acupuntura sobre esta variable presenta significación estadística en los momentos 15' y 45' ( $p < 0,05$ ) que se pierde en los momentos 60' y 75' ( $p > 0,05$ ), presentando al final del tratamiento relajación de los párpados solo el 3% de los caballos, mientras que el 93,3% mantienen el gesto normal. La tensión en los ojos se pierde completamente desde el momento 30', manteniéndose la significación estadística ( $p < 0,05$ ) desde este momento. Los caballos comienzan con un porcentaje de párpados en posición normal del 56,7%, porcentaje que aumenta de forma significativa ( $p < 0,05$ ) en los momentos 60' y 75', finalizando con un 93,3% de los animales con los párpados en posición normal.

El test de exactitud de Fisher también muestra diferencias significativas entre grupos en los distintos momentos del estudio.

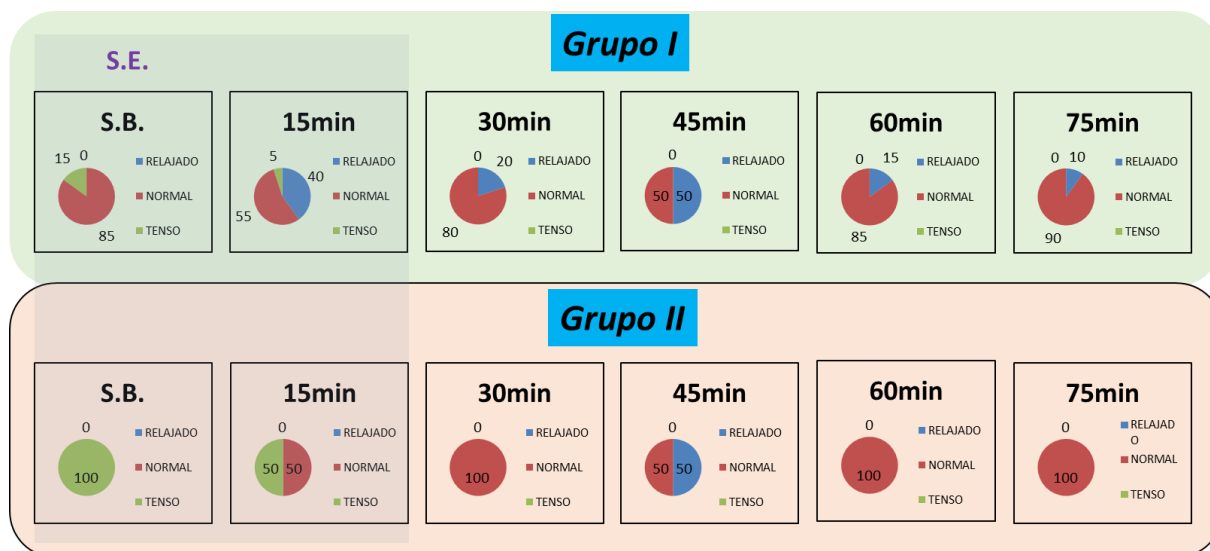


Gráfico 18.- Gráficos circulares de porcentajes de los gestos de los ojos de cada grupo, en los distintos momentos del estudio.

En situación basal el 100% de los caballos del grupo II presentan tensión en los párpados, frente a un 15% de los caballos del grupo I ( $p < 0,0001$ ). Con la aplicación del

tratamiento, ya se observa que los caballos se van relajando, puesto que a los 15 minutos post-punción, solo un 50% de los caballos del grupo II presentaba tensión en los párpados frente a un 5% de caballos del grupo I ( $p < 0,003$ ). Además, en el grupo I, ya aparece un 40% de caballos con relajación de los párpados. A los 30 minutos, el 100% de los caballos del grupo II, presentan los párpados normales, frente a un 80% del grupo I ( $p = 0,27$ ). Hay que resaltar que la relajación de los párpados en el grupo I ha disminuido hasta un 20%. El efecto del tratamiento se iguala en los dos grupos en el momento 45', puesto que en ambos se observa un 50% de ejemplares con los párpados relajados y el 50% restante con el ojo en posición normal ( $p = 1,000$ ). La relajación de los ojos se pierde en el grupo II a partir del momento 60', cuando todos los ejemplares mantienen el ojo en posición normal, frente a un 85% de los caballos del grupo I ( $p = 0,540$ ), aunque un 15% todavía presentan relajación en los párpados.

Valorando el gesto de los ojos de una forma global podemos decir que, la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP no se observan de forma tan acusada en ambos grupos, como en otras variables analizadas. El efecto más claro se observa, en el momento 45', en el que un 50% de los caballos presenta relajación de los párpados, habiendo desaparecido en todos los ejemplares la tensión en los ojos. La relajación de los párpados desaparece por completo en el grupo II a los 60 minutos post-punción, aunque, de alguna forma el efecto se mantiene, puesto que ningún ejemplar mostró tensión en los párpados al final del experimento, cuando recordemos que partían de un 100% de ejemplares con el ojo tenso. Una vez más, el efecto del tratamiento es más perceptible en el grupo I, puesto que, a partir del momento 15' (40%) y hasta el final del tratamiento (10%) existen animales con los párpados relajados.

#### **viii. - Posición de las manos**

En la posición de las manos, las opciones que se contemplan en función del estado del caballo son:

Valor 0=quietas. El caballo está relajado.

Valor 1= inquietas. Gesto muy relacionado con el aburrimiento.

Valor 2= rasca. Suele ser un indicativo de irritación. Es frecuente observarlo en caballos cuando están mucho tiempo atados en el mismo sitio.

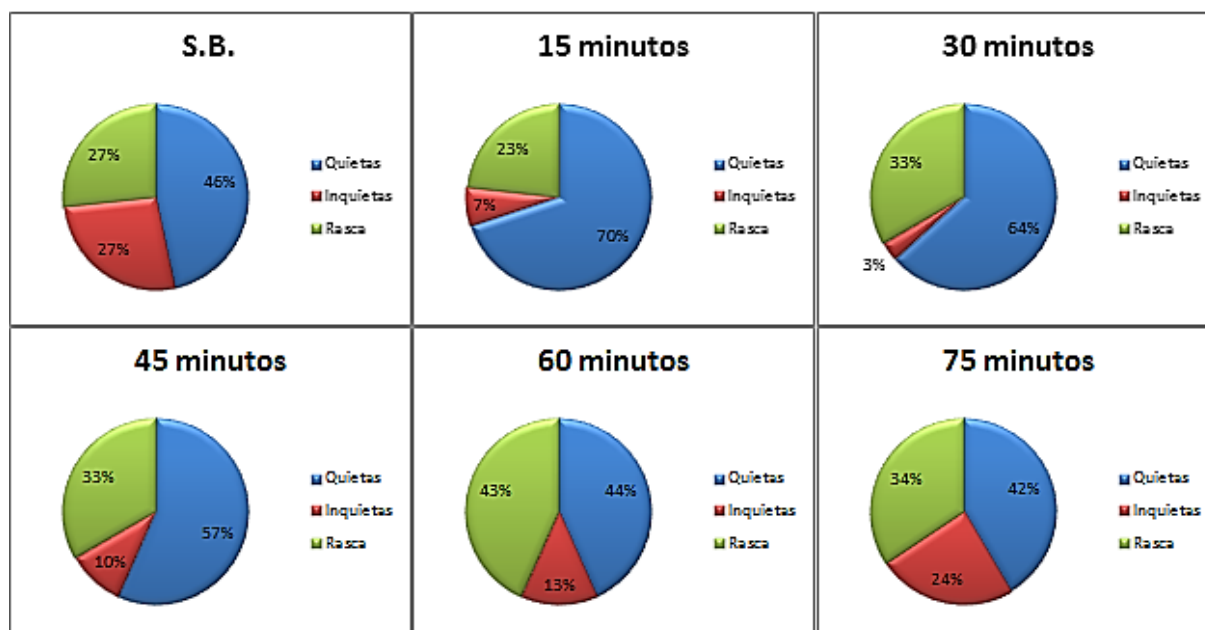


Gráfico 19.- Gráficos circulares para mostrar la posición de las manos de ambos grupos, en los distintos momentos del estudio.

		MOMENTO						Total
		0:0	15:0	30:0	45:0	60:0	75:0	
MANOS 0,0	Recuento	14 <sub>a</sub>	21 <sub>a</sub>	19 <sub>a</sub>	17 <sub>a</sub>	13 <sub>a</sub>	13 <sub>a</sub>	97
	% dentro de MOMENTO	46,7%	70,0%	63,3%	56,7%	43,3%	43,3%	53,9%
1,0	Recuento	8 <sub>a</sub>	2 <sub>a</sub>	1 <sub>a</sub>	3 <sub>a</sub>	4 <sub>a</sub>	7 <sub>a</sub>	25
	% dentro de MOMENTO	26,7%	6,7%	3,3%	10,0%	13,3%	23,3%	13,9%
2,0	Recuento	8 <sub>a</sub>	7 <sub>a</sub>	10 <sub>a</sub>	10 <sub>a</sub>	13 <sub>a</sub>	10 <sub>a</sub>	58
	% dentro de MOMENTO	26,7%	23,3%	33,3%	33,3%	43,3%	33,3%	32,2%
Total	Recuento	30	30	30	30	30	30	180
	% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 13.- Evolución de la posición de las manos a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (manos \* momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

En situación basal un 27% de los animales presentaba signos de rascado y de manos inquietas, respectivamente. Tras la punción se observó un cese de la actividad de las manos, mostrando un 70% de los ejemplares las manos tranquilas a los 15 minutos después de la punción, manteniéndose este efecto a lo largo de toda la experimentación, ya que al final de ésta un 42% de los animales todavía mantenía las manos relajadas, frente a un 34% que

rascaba y un 24% que las mantenía tranquilas. En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar la evolución de los porcentajes de la posición de las manos a lo largo del tiempo. En este parámetro no se observa significación estadística en ningún momento del estudio, en ninguna categoría y, esto puede ser debido a que, los porcentajes de cada una de ellas están muy repartidos dentro del total de la población.

El test de exactitud de Fisher muestra diferencias significativas entre grupos en varios momentos del estudio.

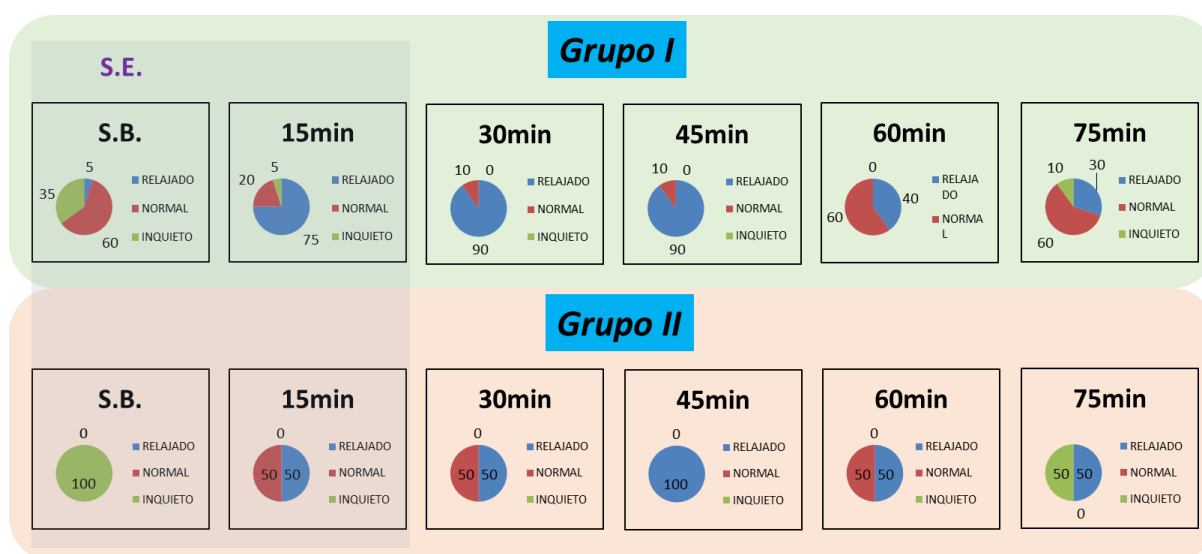


Gráfico 20.- Gráficos circulares de porcentajes de la posición de las manos de cada grupo, en los distintos momentos del estudio.

En situación basal, un 100% de los caballos del grupo II, presentaba las manos inquietas, respecto a un 60% de los del grupo I ( $p < 0,032$ ). A los 15' postpunción un 75% de los caballos del grupo I presentaba un 75% de relajación en las manos, frente a un 50% de animales del grupo II ( $p < 0,05$ ). El porcentaje máximo de relajación lo alcanza el grupo I en el momento 30' con un 90% de caballos con las manos relajadas, porcentaje que se mantiene también en el momento 45'. El grupo II presenta un 50% de caballos con relajación de las manos en el momento 30', no existiendo significación estadística entre ambos grupos ( $p = 0,387$ ). Este grupo presenta un 100% de relajación en el momento 45'. Cuando se retiran las agujas se observa un descenso de los porcentajes de relajación en ambos grupos: 40% en el grupo I y 50% en el grupo II ( $p = 0,280$ ). En el momento 75', todavía un 30% del grupo I y un 50% del grupo II, presentaban signos de relajación en las manos. La diferencia entre los dos grupos en este momento se observa en el porcentaje de manos inquietas, ya que mientras que

solo un 10% de los caballos del grupo I presentan esta característica, este porcentaje se incrementa hasta el 50% en el grupo II.

Valorando la posición de las manos de una forma global y, relacionándola con la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP, podemos decir que, el tratamiento de acupuntura ha tenido un acusado efecto en la relajación de las manos en ambos grupos, alcanzándose en el grupo I, porcentajes de relajación del 90% en los momentos 30´y 45´y del 100% en el grupo II en el momento 45´. Al final del periodo experimental, todavía permanecían un 50% de los caballos del grupo II con las manos relajadas, siendo solo un 30% en el grupo I.

### ix. Posición de los pies

En la posición de los pies las opciones que se contemplan en función del estado del caballo son:

Valor 0= quietos. El caballo está relajado.

Valor 1= inquietos. Denota aburrimiento.

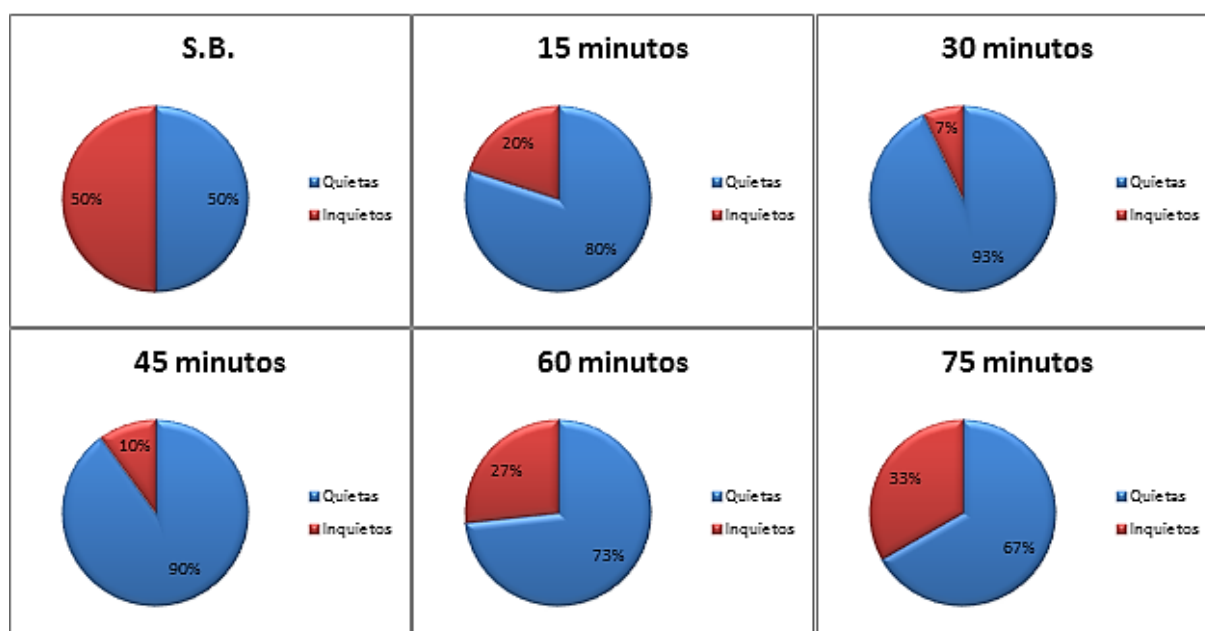


Gráfico 21.- Gráficos circulares de porcentajes en ambos grupos, para mostrar la posición de los pies en los distintos momentos del estudio.

			MOMENTO						Total
			0:0	15:0	30:0	45:0	60:0	75:0	
PIES	0,0	Recuento	15 <sub>a</sub>	24 <sub>a, b</sub>	27 <sub>b</sub>	27 <sub>b</sub>	22 <sub>a, b</sub>	20 <sub>a, b</sub>	135
		% dentro de MOMENTO	50,0%	80,0%	93,1%	90,0%	73,3%	66,7%	75,4%
	1,0	Recuento	15 <sub>a</sub>	6 <sub>a, b</sub>	2 <sub>b</sub>	3 <sub>b</sub>	8 <sub>a, b</sub>	10 <sub>a, b</sub>	44
		% dentro de MOMENTO	50,0%	20,0%	6,9%	10,0%	26,7%	33,3%	24,6%
Total		Recuento	30	30	29	30	30	30	179
		% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 14.- Evolución de la posición de los pies a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (pies \* momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

En situación basal un 50% de los animales presentaba signos de quietud y de pies inquietos. Tras la punción se observó un cese de la actividad de los pies, mostrando un 80% de los ejemplares los pies quietos a los 15 minutos después de la punción, alcanzando un porcentaje del 93% de animales con los pies relajados en el momento 30' y, manteniéndose este efecto a lo largo de toda la experimentación, ya que al final de ésta un 67% de los animales todavía mantenía los pies quietos. En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar la evolución de los porcentajes de la posición de los pies a lo largo del tiempo. Se observa que la significación estadística relacionada con la relajación de los pies y el tratamiento de acupuntura, se alcanza en los momentos 30' y 45' ( $p < 0,05$ ), cuando se comparan los porcentajes con la toma basal. También se observa que este efecto no se pierde con la retirada de las agujas, puesto que los porcentajes de los momentos 60' y 75' no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) de los que se miden en el periodo en el que las agujas están colocadas en los animales.

El test de exactitud de Fisher muestra diferencias significativas, entre grupos, en varios momentos de la experimentación.

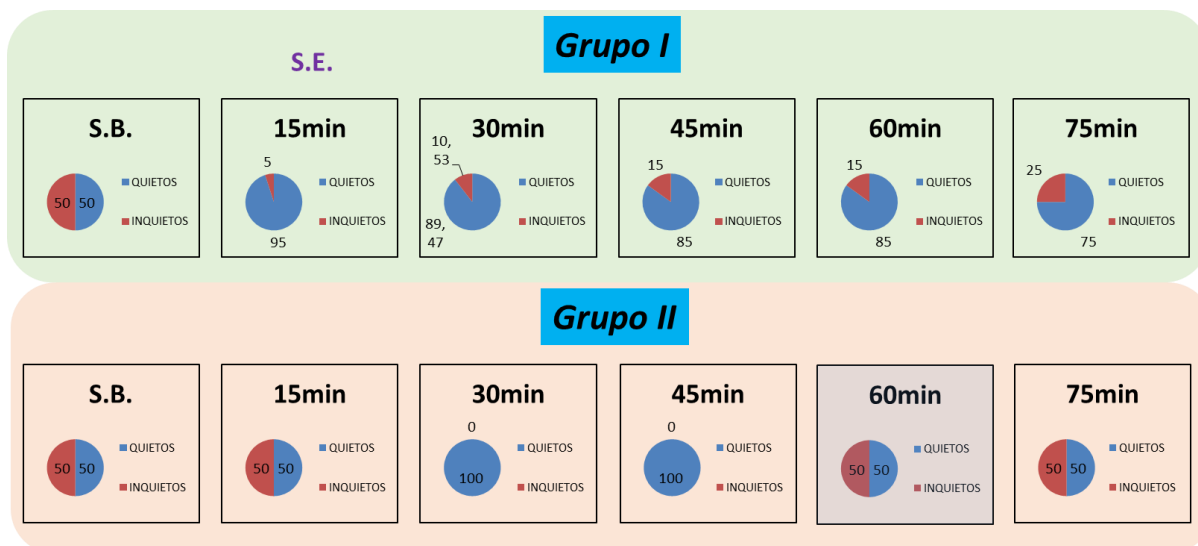


Gráfico 22.- Gráficos circulares de porcentajes de la posición de los pies de cada grupo, en los distintos momentos del estudio.

Los dos grupos presentan la misma situación basal: un 50% de la población tiene los pies relajados y el 50% restante inquietos ( $p= 1,000$ ). El efecto del tratamiento de acupuntura es distinto entre grupos en cada momento. Los gráficos muestran que, en el grupo I, este efecto es más rápido y sostenido en el tiempo, ya que a los 15 minutos post-punción un 95% de los caballos muestran los pies relajados respecto al 50% del grupo II ( $p< 0,001$ ) que sigue con el mismo porcentaje que el observado en la situación basal. En los momentos 30' y 45', el efecto es más acusado en el grupo II, ya que el 100% de los ejemplares muestra los pies relajados, respecto a un 89,5% y un 85%, no existiendo significación estadística al realizar la comparación entre grupos ( $p= 0,532$  en ambos casos). Sin embargo, el grupo II vuelve a la situación basal a los 60 y 75 minutos post-punción, con un 50% de los caballos mostrando los pies relajados, mientras que el grupo I presenta un 85% y un 75% de animales con los pies relajados después de retirar las agujas, aunque la comparación entre grupos no es estadísticamente significativa en estos momentos ( $p> 0,07$  y  $p=0,230$ , respectivamente).

Valorando la posición de los pies de una forma global y, relacionándola con la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP, podemos decir que, el tratamiento de acupuntura ha sido más efectivo en los momentos 30' y 45' ( $p< 0,05$ ), en los que se miden porcentajes de pies relajados de, 93% y 90%, respectivamente, manteniéndose, además, este efecto hasta el final de la experimentación. Cuando se realiza la comparación entre grupos, se comprueba que el efecto del tratamiento sobre la relajación de los pies es más rápido (95% en el grupo I vs 50% en el grupo II;  $p< 0,0001$ , en el momento 15') y sostenido

en el tiempo en el grupo I, en el que se mantienen altos porcentajes de relajación hasta el final de la experimentación: un 75% de caballos con pies relajados en el momento 75' en el grupo I vs 50% de pies relajados en caballos del grupo II ( $p = 0,230$ ), recuperando este grupo II los porcentajes observados en la toma basal. Sin embargo, el efecto es superior en el grupo II con un 100% de los animales presentando los pies relajados en los momentos 30' y 45', aunque no se observe significación estadística, ya que los porcentajes de relajación de pies en el grupo I también son elevados en esos momentos (89,5% y un 85%;  $p = 0,532$  en ambos casos).

**x. Posición de la cola**

En la posición de la cola, las opciones que se contemplan en función del estado del caballo son:

Valor 0= normal. El caballo está relajado.

Valor 1= alta. Gesto de tensión ante una situación estresante.

Valor 2= inquieta.

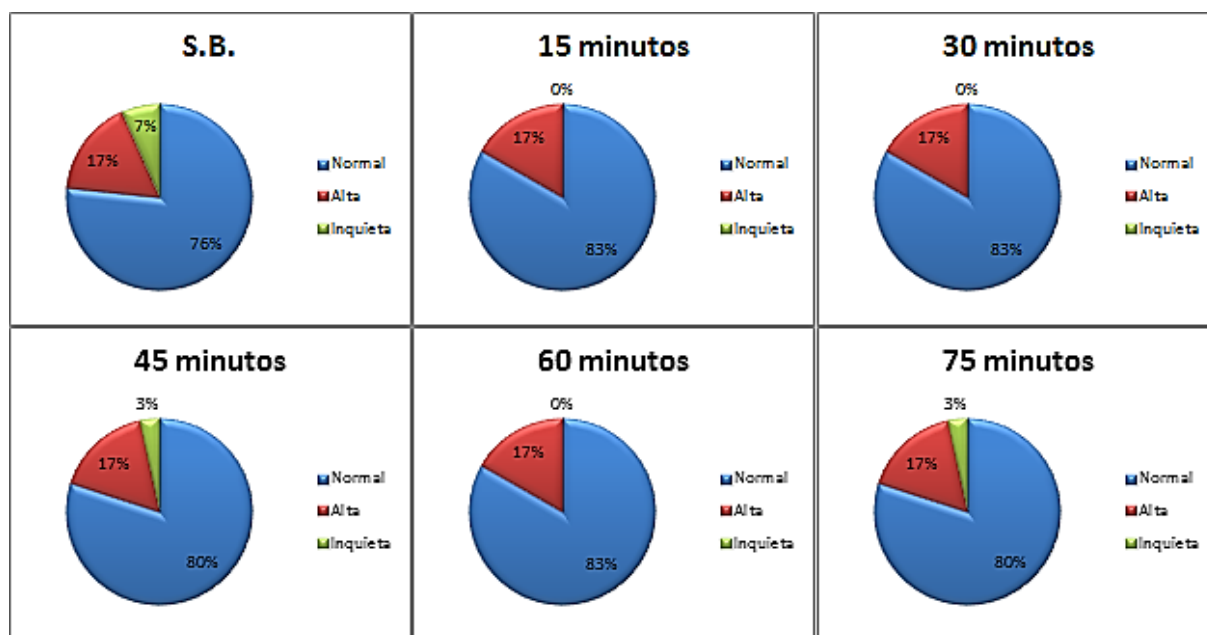


Gráfico 23.- Gráficos circulares para mostrar la posición de la cola de ambos grupos, en los distintos momentos del estudio.

			MOMENTO						Total
			0:0	15:0	30:0	45:0	60:0	75:0	
COLA	0,0	Recuento	23 <sub>a</sub>	25 <sub>a</sub>	25 <sub>a</sub>	24 <sub>a</sub>	25 <sub>a</sub>	24 <sub>a</sub>	146
		% dentro de MOMENTO	76,7%	83,3%	83,3%	80,0%	83,3%	80,0%	81,1%
	1,0	Recuento	5 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	5 <sub>a</sub>	30
		% dentro de MOMENTO	16,7%	16,7%	16,7%	16,7%	16,7%	16,7%	16,7%
	2,0	Recuento	2 <sub>a</sub>	0 <sub>a</sub>	0 <sub>a</sub>	1 <sub>a</sub>	0 <sub>a</sub>	1 <sub>a</sub>	4
		% dentro de MOMENTO	6,7%	0,0%	0,0%	3,3%	0,0%	3,3%	2,2%
Total		Recuento	30	30	30	30	30	30	180
		% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Tabla 15.- Evolución de la posición de la cola a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (cola \* momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

En situación basal un porcentaje elevado de caballos mantenía la cola en posición relajada (76%), solo un 75% la presentaba inquieta y un 17% alta. Quince minutos después de la punción, un 83% de los ejemplares de nuestro estudio mostró una postura baja de la cola y un 17% alta, desapareciendo la postura inquieta. Los porcentajes de cola en posición relajada se mantuvieron similares hasta el final de la experimentación, en el que un 80% de los ejemplares sigue mostrando un estado relajado de la cola, el otro 17% muestra la cola en posición normal y hay una mínima muestra de inquietud del 3%. En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar que la evolución de los porcentajes de esta variable, a lo largo del tiempo, es similar en todos los momentos estudiados, puesto que en ningún caso se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ).

El test de exactitud de Fisher muestra diferencias significativas entre grupos en cada momento del estudio.

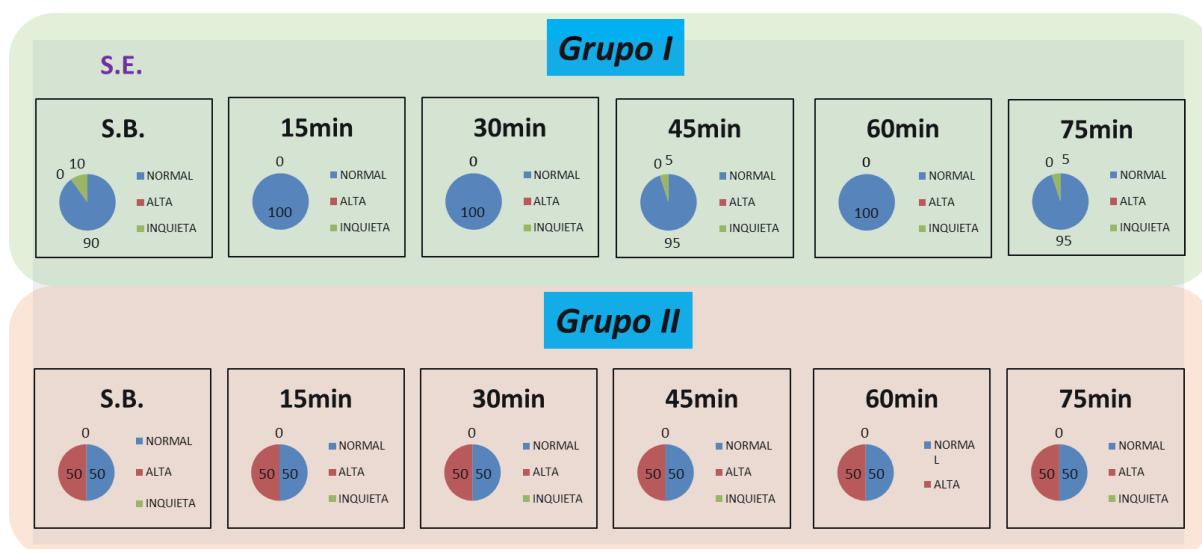


Gráfico 24.- Gráfico de porcentajes de la posición de la cola de cada grupo en cada momento.

Los resultados muestran que el tratamiento de acupuntura ha tenido un ligero efecto sobre los animales del grupo I, puesto que en todos los momentos del estudio presentan porcentajes que oscilan entre el 90 y el 100% de animales con la cola en posición normal, lo que es un índice de relajación. En el grupo II el tratamiento de acupuntura no ha tenido ningún efecto sobre la posición de la cola; en todos los momentos se observan porcentajes del 50% de animales con la cola en posición normal y el otro 50% con la cola alta. Al realizar la comparación estadística entre grupos, en cada momento del estudio, todas ellas presentan una elevada significación estadística ( $p < 0,001$ ).

Valorando la posición de la cola de una forma global y, relacionándola con la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP, podemos decir que, el tratamiento de acupuntura solo ha sido efectivo en los ejemplares del grupo I, lográndose un 100% de efectividad en varios momentos (15', 30' y 60'), manteniéndose, además, este efecto hasta el final de la experimentación, en el que un 95% de los caballos de este grupo todavía presentaban la cola relajada.

#### xi. Estado general

En el estado general, las opciones que se contemplan en función del estado del caballo son:

Valor 0= relajado. El caballo está relajado.

Valor 1= normal.

Valor 2= inquieto.

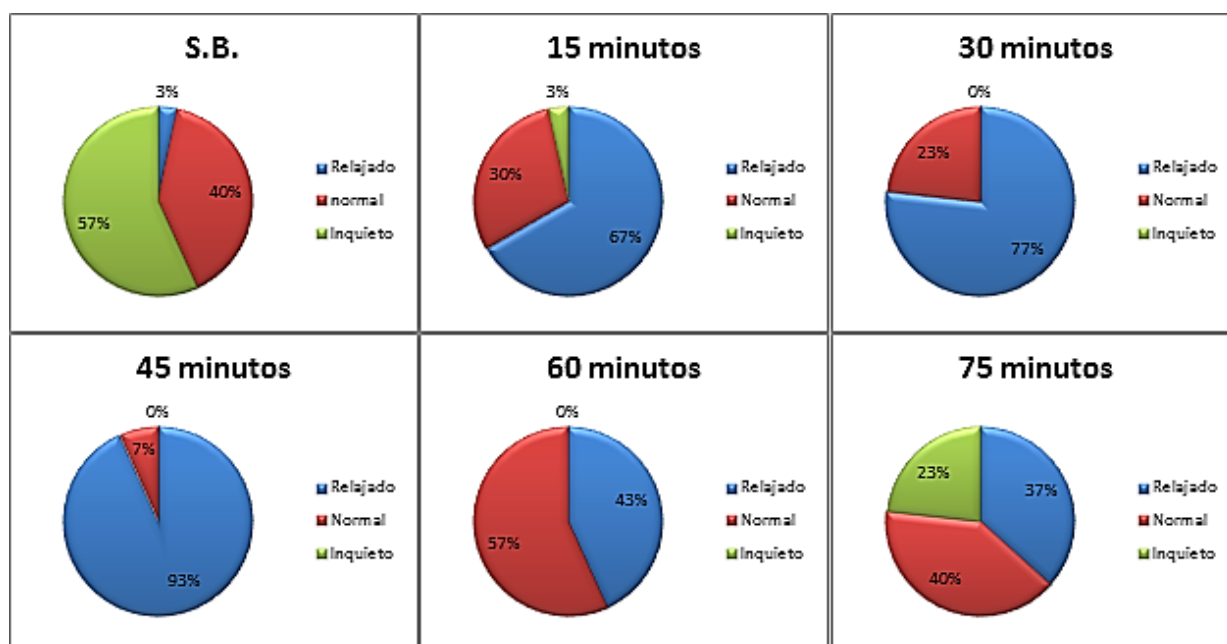


Gráfico 25.- Gráficos circulares de porcentajes para mostrar el estado general de ambos grupos, en los distintos momentos del estudio.

		MOMENTO						Total	
		0:0	15:0	30:0	45:0	60:0	75:0		
GENERAL	0,0	Recuento	1 <sub>a</sub>	20 <sub>b, c, d</sub>	23 <sub>c, d</sub>	28 <sub>d</sub>	13 <sub>b, c</sub>	11 <sub>b</sub>	96
		% dentro de MOMENTO	3,3%	66,7%	76,7%	93,3%	43,3%	36,7%	53,3%
	1,0	Recuento	12 <sub>a</sub>	9 <sub>a, b</sub>	7 <sub>a, b</sub>	2 <sub>b</sub>	17 <sub>a</sub>	12 <sub>a</sub>	59
	% dentro de MOMENTO	40,0%	30,0%	23,3%	6,7%	56,7%	40,0%	32,8%	
	2,0	Recuento	17 <sub>a</sub>	1 <sub>b</sub>	0 <sub>b</sub>	0 <sub>b</sub>	0 <sub>b</sub>	7 <sub>a, b</sub>	25
	% dentro de MOMENTO	56,7%	3,3%	0,0%	0,0%	0,0%	23,3%	13,9%	
Total	Recuento	30	30	30	30	30	30	180	
	% dentro de MOMENTO	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

Tabla 16.- Evolución del Estado General del animal a lo largo del tiempo. Comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado (General \* Momento). Cada letra del subíndice denota un subconjunto de Momento, categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

En situación basal, observando sus gestos y su lenguaje no verbal, solo un 3% de los caballos están relajados, un 57% se muestran inquietos y un 40% en estado normal. Tras la realización de la punción se observa un cambio en el comportamiento de los mismos, ya que a los 15 minutos postpunción un 67% de los ejemplares se encuentran relajados frente a un 3% que se muestran intranquilos y un 30% que se encuentran en un estado de normalidad. Antes de la retirada de las agujas, en el momento 45', hay un 93% de caballos que se muestran relajados y, en esta ocasión, no se registra ningún caballo con gestos de inquietud. Tras la retirada de las agujas estos porcentajes se modifican, aumenta el número de caballos que muestran un estado normal (57%) frente al porcentaje de caballos que está relajado (43%), aun así se sigue observando el efecto del tratamiento al final del periodo experimental, al observar que, en el momento 75' un 37% de los caballos aún están relajados, frente a un 40% que están en un estado normal y un 23% que se muestran inquietos. En la tabla de comparaciones múltiples asociadas a la Chi-cuadrado, se puede observar que la evolución de los porcentajes de esta variable, a lo largo del tiempo, está influenciada por el tratamiento de acupuntura, los porcentajes de caballos que presentan relajación van aumentando progresivamente hasta el momento 45', en el que se observa el mayor porcentaje de caballos relajados (93,3%) presentando este valor significación estadística ( $p < 0,05$ ) con todos los momentos del estudio. El efecto del tratamiento no se pierde con la retirada de las agujas, puesto que, comparando los porcentajes de animales relajados que se observan en situación basal (3,3%) con los del final del experimento (36,7%), se comprueba que esta diferencia presenta significación estadística ( $p < 0,05$ ). Es muy llamativa la evolución del porcentaje de animales inquietos a lo largo del tiempo, ya que el tratamiento hace que el porcentaje de animales intranquilos que se observa en situación basal (56,7%) desaparezca completamente, incluso en el momento 60', es decir quince minutos después de retirar las agujas de acupuntura, presentando en todos estos momentos porcentajes significativamente distintos ( $p < 0,05$ ). Al final del experimento, se pierde la significación estadística ( $p > 0,05$ ) y un 23% 3 de los caballos vuelven a estar intranquilos.

El test de exactitud de Fisher muestra diferencias significativas entre grupos en diferentes momentos del estudio.

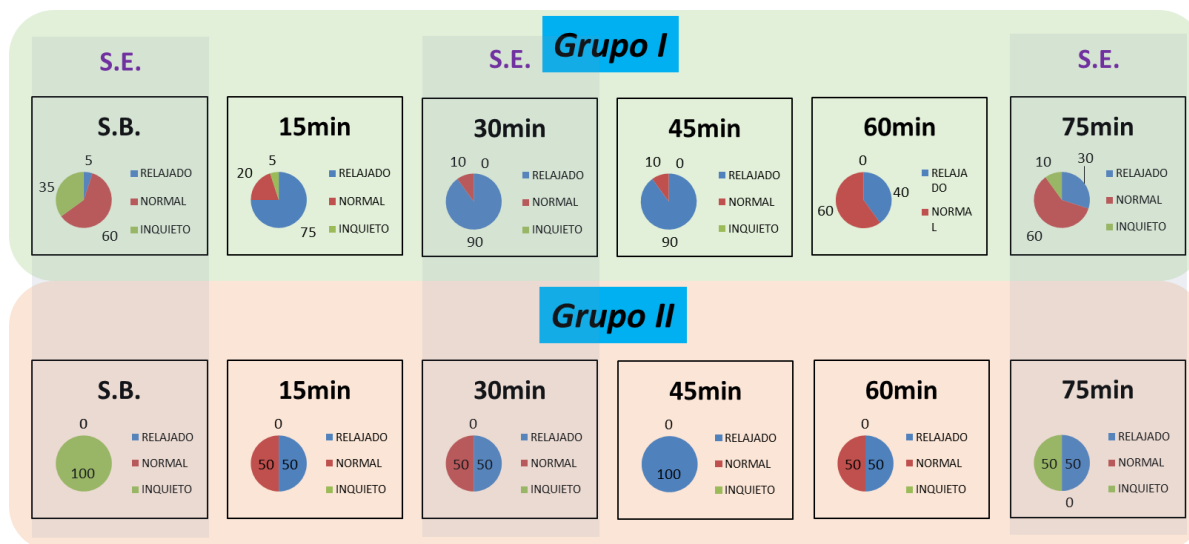


Gráfico 26.- Gráfico de porcentajes del estado general de cada grupo en cada momento.

La situación basal es muy distinta entre grupos, un 100% de los caballos del grupo II están intranquilos, frente a un 35 % de animales del grupo I ( $p < 0.01$ ). El efecto del tratamiento es muy acusado en ambos grupos, aunque ligeramente más rápido en los caballos del grupo I, puesto que a los 15 minutos después de las punción un 75% de los ejemplares ya se encuentran relajados frente a un 50% del grupo II, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa ( $p = 0,268$ ). En el momento 30', un 90% de los caballos del grupo I están relajados frente a un 50% del grupo II ( $p < 0,025$ ). El grupo II alcanza un 100% de efectividad en el momento 45', quedándose solo en un 90% el grupo I ( $p = 0,540$ ). Al final de la experimentación se observa un mayor porcentaje de animales relajados en el grupo II (50% vs 30%,  $p < 0,05$ ), pero mientras que todos los restantes caballos del grupo II se muestran inquietos, solo se observa un pequeño porcentaje del grupo I que lo están (50% vs 10%;  $p < 0,05$ ), permaneciendo un 60% de los ejemplares del grupo I en estado normal.

Valorando el estado general de los animales de una forma global y, relacionándolo con la presencia de los signos relacionados con la activación del SNAP, podemos decir que, el tratamiento de acupuntura ha sido muy efectivo, a lo largo de la experimentación y en los dos grupos de animales, observándose un elevado porcentaje de animales relajados en el momento 45' (93,3%) y, tal y como hemos señalado anteriormente, presentando este valor significación estadística ( $p < 0,05$ ) con todos los momentos del estudio. Además, el efecto del tratamiento no se pierde con la retirada de las agujas, puesto que al final del experimento, un 36,7% de ejemplares aún permanecen relajados ( $p < 0,05$ ). Asimismo, se compara la efectividad de la acupuntura en los dos grupos de animales, obteniéndose en ambos grupos elevados

porcentajes de ejemplares relajados, especialmente en el momento 45', alcanzando el grupo II un 100% de efectividad y el grupo I un 90% ( $p= 0,540$ ). Además, la efectividad del tratamiento se mantiene con la retirada de las agujas, puesto que, al final de la experimentación, todavía se observa un 50% de animales relajados en el grupo II y un 30% en el grupo I ( $p< 0,05$ ).



# Discusión

---



La hipótesis de la presente Tesis Doctoral es que la Acupuntura induce una respuesta neuroendocrina, mediante la activación y/o inhibición del Sistema Nervioso Autónomo (SNA), que provoca una relajación general en el caballo, que servirá para facilitar su manejo en la práctica diaria.

El objetivo principal de esta tesis ha sido valorar que, a través de la punción de tres puntos de Acupuntura: Baihui, VG16 y V60 en el lado derecho, se puede inducir una respuesta neuroendocrina que conducirá a una relajación objetiva y cuantificable del caballo.

Por ello, se ha diseñado un estudio en el que se han recogido variables tanto objetivas y medibles, como son concentraciones séricas de determinadas hormonas y, una serie de variables cuantificables (FC, FR, TAS, TAD y TEMP), así como otra serie de variables subjetivas cualitativas, implicadas todas ellas en la activación y/o inhibición del SNA, relacionando, posteriormente, los resultados de unas con las otras.

Walter Cannon en 1930 (192) fue el primero en definir el término homeostasia, para describir el proceso fisiológico coordinado que mantiene estable las funciones de un organismo, destacando al sistema nervioso simpático como un sistema homeostático esencial, útil para reparar las alteraciones de la homeostasia y, permitir y promover la supervivencia del organismo afectado. En 1932, Walter Canon define el concepto de estrés como una perturbación de la homeostasia ante distintos estímulos, dando a entender que, el estrés presenta una gradación, lo que hace posible su medición. Selye en 1936 fue quien atribuyó al término estrés, un sentido técnico muy especial. En una carta a la revista Nature<sup>2</sup>, describió una tríada patológica compuesta por un aumento del tamaño de las glándulas suprarrenales, úlceras gastrointestinales e involución del sistema timo-linfático, definiendo el estrés como, un conjunto coordinado de reacciones fisiológicas ante cualquier forma de estímulo nocivo (incluyendo las amenazas psicológicas). Por tanto, Selye (193) fue el primero en introducir el concepto de estrés y activación del eje HHA en respuesta a una situación de aversión.

Ante los factores estresantes, el organismo genera una respuesta de adaptación al estrés que es el resultado de la activación de una serie de rutas neuroendocrinas: tras el procesamiento del estímulo estresante por parte del sistema nervioso central, los sistemas autónomo y neuroendocrino elaboran la respuesta mediante la producción y liberación de diferentes hormonas. La concentración de cada una de estas hormonas, estudiadas en este trabajo, nos indica el grado de activación del eje HHA y la capacidad del organismo de responder al estrés. El estrés es una condición multifactorial, y durante el manejo del caballo muchos estímulos diferentes pueden actuar como estresores (87).

Encontramos múltiples estudios que describen situaciones que pueden resultar estresantes para los caballos, como son: el transporte (193,194,196,197), el deporte (89,196,197), el dolor (198,199,200), exámenes veterinarios (87), cambio de grupo de congéneres y situaciones nuevas a las que se somete al animal (87,201,202).

Diferentes autores (87,89,107,201,203,204) afirman que el estrés agudo genera una serie de modulaciones que implican principalmente al SNA y al eje HHA. Estas modulaciones, se ven reflejadas en los cambios que pueden sufrir variables como la FC, FR, cortisol, concentraciones de ACTH, niveles de serotonina, niveles de dopamina, epinefrina y norepinefrina, entre otros.

El estrés, mantenido en el tiempo, puede generar cambios metabólicos y de la homeostasia siendo muy perjudicial para el organismo (95,102).

Además, el estrés, ya sea agudo o crónico, produce cambios en el comportamiento del caballo que pueden ser lesivos para él mismo y, para quien lo maneja, cuando este se muestra como agresividad (202,205).

El bienestar animal es un área de investigación de gran relevancia en la actualidad, encontrándose en la literatura una gran variedad de trabajos que evalúan el estado de bienestar de distintas especies a través del uso de indicadores de tipo directo e indirecto (206,207).

La Acupuntura lleva demostrando su eficacia en diversas patologías desde hace años a través de los estudios realizados. Las últimas tendencias en investigación buscan, por un lado conseguir efecto de sedación o relajación, con tratamientos Acupunturales, complementados, o no, con aplicaciones de otros fármacos en mínimas dosis o corrientes eléctricas, y por otro, clarificar los mecanismos de acción de esta técnica milenaria.

Hasta donde sabemos, este es el primer estudio sistemático que ha medido las concentraciones séricas de aquellas hormonas implicadas en las respuestas de estrés, como son ACTH, cortisol, epinefrina, norepinefrina, serotonina y dopamina, así como variables objetivas que indican una respuesta de activación o inhibición del SNA y, ha realizado una observación directa subjetiva del comportamiento del caballo, en relación con los signos de relajación obtenidos durante y tras un tratamiento de Acupuntura concreto.

## **1. Elección de puntos de Acupuntura, realización de técnicas de Acupuntura y tiempos de tratamiento.**

Tras la correspondiente revisión bibliográfica, en la que se analizaron los estudios publicados, relacionados con la aplicación de distintos tratamientos acupunturales, se realizó, siguiendo el criterio de otros estudios similares (204), una selección de tratamientos en función de su frecuencia de uso en la práctica equina, su fácil acceso y su tolerancia por el caballo.

Se utilizaron diferentes tipos de punciones de Acupuntura en una población de caballos machos, enteros y castrados, de diferentes razas y edades, para valorar los efectos de estas punciones sobre estos animales, así como su viabilidad a la hora de la aplicación de la técnica. La punción Baihui está presente en todos los tratamientos propuestos ya que es un punto frecuentemente usado en la praxis equina con diversos efectos: favorece la reproducción equina (208), se ha utilizado en distintas patologías como por ejemplo, en patología de la región lumbosacra (204), patología osteoarticular en miembros pelvianos (204) y para conseguir un efecto de relajación de los animales (89,194,201,204,208).

La punción Vejiga 60 es otro de los puntos que se han usado en diferentes estudios (198,209,210) para paliar el dolor e inducir un estado de relajación, tanto en animales como en humanos. Este punto se encuentra en la región del corvejón, un punto que puede presentar problemas para realizar una punción de Acupuntura en caballos, porque tienden a quitarse las agujas, pero, en nuestro estudio, los caballos no mostraron molestias durante la realización de la punción, y durante el tiempo del estudio, no presentaron aumento del movimiento de los miembros posteriores, ni intentaron quitarse las agujas de Acupuntura.

La punción Pericardio 6, es un punto de uso común para tratar el nerviosismo, encontrando estudios que lo integran como punto aislado (198,199) para el tratamiento de patologías osteoarticulares de los miembros torácicos y, para provocar una respuesta química, que genere cambios sobre el estrés y el comportamiento, en humanos. En combinación con otros puntos (204) se ha utilizado para valorar el descenso de la actividad parasimpática, a través del registro de la variabilidad del ritmo cardiaco (HRV) medido con Ecocardiograma (ECG). A pesar de que este punto esté especialmente indicado para calmar la mente ante situaciones estresantes, en nuestro trabajo, observamos que, tras punturarlo, en combinación con otros puntos, en las punciones nº 2 en el lado derecho (en combinación con Vejiga 60 en el lado derecho y Baihui), nº 4 en el lado derecho (en combinación con Vaso Gobernador 16, Vaso Gobernador 20, Vaso Concepción 17) y en la punción nº5 aplicado bilateralmente (en

combinación con Vaso Gobernador 16, Baihui, Vejiga 60 bilateral), los seis animales en los que se punturó Pc6, presentaron signos de incomodidad con estas agujas, ya que mostraron gestos de inquietud, como por ejemplo, patear con las manos y un movimiento continuo de la cabeza y la cola. Dos de los caballos se quitaron las agujas con movimientos bruscos realizados con los miembros torácicos, tras lo cual parecían mostrarse menos incómodos. Por todos estos motivos decidimos descartar este punto en el estudio.

Los puntos elegidos del meridiano extraordinario de Vaso Gobernador, corresponden a zonas de tratamiento de la espiritualidad y el tratamiento de la mente según la MTCh en humanos. Su uso en la especie equina está muy extendido para combatir la ansiedad y mejorar el flujo arterial en el cerebro (211), mejorando así su función. En caballos hay varios estudios que recogen los efectos de la punción de VG20 en el campo de la analgesia y la anestesiología (200,202,222). La punción VG16 se ha usado tanto en ratas (213) como en potros (214) con fines similares a la punción VG20. En el transcurso de la parte inicial de este estudio, observamos que hay caballos que no toleraron bien la manipulación de las orejas o de objetos cerca de ellas. Los ejemplares se encontraban más a gusto con la punción VG16 respecto a VG20, ya que en ésta se coloca la aguja entre las orejas. El manejo de la aguja en VG16 es más cómodo para el terapeuta y ambas punciones se indican en el tratamiento del estrés. Por todo lo anterior y, ante una mejor comodidad de los animales y del terapeuta decidimos usar VG16.

Respecto al punto VC17, es un punto indicado en la MTCh para equilibrar el Qi a través de la tonificación del Yin que, como se ha explicado en la introducción, se corresponde con la calma y la quietud dentro de este tipo de medicina oriental. Los estudios realizados con este punto, están orientados a mejorar el estado ventilatorio en caballos de deporte (198) y a ayudar en la gestión de los estados de estrés producidos por el transporte de los caballos (196). No es un punto difícil de punturar para el terapeuta, pero no resultó cómodo para los caballos, ya que tras la punción los ejemplares comenzaron a darse con los cascos de las manos en la zona de punción y esto podía producir que se rompiese la aguja o que, con los golpes la zona resultase dañada. Por todo ello, también se descartó este punto en el estudio.

Tras evaluar todas las posibilidades, seleccionamos la punción triple Baihui, Vejiga 16 y VG16 como las más apropiadas para conseguir los objetivos planteados en nuestro estudio.

La estimulación realizada en las agujas es importante en la MTCh, ya que hace que se tonifique o se disperse la energía del meridiano, logrando un efecto de estímulo o de

relajación sobre el Qi. Los estudios revisados hasta la fecha, han seguido tres líneas de trabajo, por un lado hay estudios en los que no se hacía ningún tipo de estimulación de las agujas (198, 202, 204,215). Por otro lado, hay estudios en los que se ha hecho un tipo de estimulación de movimiento rotacional bidireccional (196,197,216,217) sin tener en cuenta el tipo de punto a punturar, ni el meridiano al que pertenecen, ni siquiera el tipo de efecto que se quiere inducir. Por último, hay estudios que estimulan los puntos con otros medios como son la acuapuntura (171), la fármacopuntura (171,195) y la electro-acupuntura (165,218), todos ellos para producir analgesia o valorar los efectos en diferentes zonas del sistema nervioso.

La elección de los puntos de Acupuntura de este estudio está marcada por la necesidad de estandarización del protocolo experimental y no por las indicaciones terapéuticas de los sujetos individuales. Como se explicó en las Bases de la MTCh, el diagnóstico y el tratamiento debe ser un proceso individualizado en función de los signos y síntomas que presente el individuo.

En nuestro estudio se ha tenido en cuenta el tipo de punto seleccionado, el meridiano al que pertenece y el efecto que queremos provocar con la punción, siendo lo más fieles posibles a la filosofía de tratamiento de la MTCh, para valorar, con mayor certeza, los efectos de nuestro tratamiento y conseguir los objetivos planteados en el estudio.

Siguiendo con las líneas de selección del tratamiento de esta medicina, proponemos realizar un tratamiento de Acupuntura de 45 minutos de duración. El tiempo mínimo recomendado en otros trabajos similares y en los textos clásicos de MTCh es de 30 minutos (196,216), pero encontramos mucha variabilidad en los tiempos de aplicación del tratamiento de Acupuntura, entre los estudios realizados. Así, en un estudio, en el que el objetivo fue valorar los efectos de la Acupuntura sobre respuestas neuroendocrinas y comportamentales, después de provocar sobresaltos en los caballos, mediante diferentes estímulos, el tiempo de aplicación del tratamiento seleccionado fue de 20 minutos (202). En otro estudio que realiza una comparativa sobre los efectos de la Acupuntura en la variabilidad del ritmo cardiaco, utilizando dos tipos diferentes de estimulación acupuntural, una sobre puntos de Acupuntura seleccionados y otro sobre puntos situados fuera de los meridianos de Acupuntura, el tratamiento de Acupuntura se aplicó, en ambos casos, durante 20 minutos (204). Otro trabajo cuyo objetivo era controlar el nivel de estrés en caballos relacionado con el transporte de los mismos, realiza tratamientos de 30 minutos antes de subir a los ejemplares al camión (196). La propuesta de nuestro trabajo es realizar el tratamiento durante 45 minutos, teniendo en

cuenta los objetivos a alcanzar y, puesto que otros estudios (195,196) demuestran que los mayores efectos sobre el SNA comienzan a verse a partir de los 30 minutos, lo que, como veremos posteriormente, concuerda con nuestros resultados.

En relación a los tratamientos de Acupuntura realizados y las técnicas acupunturales usadas en los trabajos que se han revisado, concordamos con otros autores (195,196,202,204) en que deberían continuarse realizando investigaciones en esta materia, investigando el uso de otros puntos de Acupuntura y diferentes tipos de estimulación de las agujas, para verificar el efecto beneficioso en el caballo, respecto al tratamiento de patologías y en alteraciones del comportamiento, puesto que la información que existe actualmente es bastante escasa y, como hemos señalado anteriormente, presenta resultados contradictorios.

## **2. Respuestas neuroendocrinas inducidas por la Acupuntura en el caballo.**

Como se explicará posteriormente, nuestro estudio demuestra que el tratamiento de Acupuntura elegido, provoca una activación del SNA que se puede valorar con la medición de las hormonas analizadas, así como con las restantes variables cuantitativas que hemos medido y, además, esta activación del SNA se registró a través de la observación directa de gestos y comportamientos relacionados con la relajación de los caballos, obtenida después de la aplicación del tratamiento de Acupuntura.

La Acupuntura induce su efecto analgésico a través de mecanismos neuronales asociados con el sistema nervioso central, así como a través del mecanismo de los opiáceos endógenos y sus receptores, como las endorfinas, la encefalina, la endomorfina y la dimorfina (165).

Los niveles en sangre de glucocorticoides, catecolaminas y  $\beta$ endorfinas son los parámetros más frecuentemente usados para valorar la implicación del sistema neuroendocrino ante una situación de estrés en animales (194,201).

Una activación del SNA se asocia con la respuesta de lucha o huida. Cuando se estimula, afecta a un número diverso de sistemas fisiológicos, incluyendo el sistema cardiovascular, el sistema gastrointestinal, las glándulas exocrinas y la médula adrenal (89).

La respuesta al estrés del SNAS da como resultado la secreción de norepinefrina y epinefrina en el torrente sanguíneo. La respuesta neuroendocrina mediada por el eje HHA regula la producción y liberación de glucocorticoides como el cortisol, que tienen efectos amplios y duraderos sobre el organismo, regulando una serie de funciones fisiológicas, como la

competencia del sistema inmune, la reproducción, el metabolismo y el comportamiento. Las  $\beta$ endorfinas están implicadas en la percepción del dolor, adquisición de conductas de evitación y en respuestas fisiológicas, conductuales y emocionales a estímulos aversivos (201).

Existen estudios que contemplan y afirman el efecto sedante de la Acupuntura sobre el SN (165,195), admitiendo que hay poca información respecto a sus mecanismos de acción. Los estudios señalan que, el efecto de la Acupuntura en caballos, implica una modulación del SNA, a través de la activación de mediadores endógenos que inducen una alteración del tono simpático (196,204), dependiendo de los puntos usados y de la técnica acupuntural de elección. Otros trabajos afirman que el efecto sedante de la Acupuntura en caballos está provocado por un predominio del tono parasimpático cambiando el equilibrio vaso vagal (202). Estos mismos autores afirman que, contemplando los efectos de los tratamientos según la MTCh, se logra restaurar el equilibrio entre el Yin y el Yang, lo que en la terminología de la medicina occidental, se puede traducir como que, la Acupuntura modula el desequilibrio entre la actividad simpática y parasimpática ante situaciones de estrés. No lejos de esta línea de trabajo hay autores que tras valorar los niveles de cortisol en caballos después de 20 minutos de tratamiento acupuntural, aseguran que esta técnica influye en la percepción psicológica ante una situación estresante a través de la modulación neural, inmune y endocrina de los sistemas de control (197).

### **2.1. Efecto del tratamiento de Acupuntura sobre las concentraciones séricas hormonales**

El análisis de las concentraciones séricas de las hormonas analizadas, en los diferentes momentos del estudio, junto con la valoración de otros parámetros adicionales para la determinación de la activación o inhibición del SNA, como son la frecuencia cardiaca, la presión arterial, la frecuencia respiratoria o la activación urogenital e intestinal, reflejan el equilibrio del tono simpático y parasimpático y proporcionan información sobre la respuesta del sistema nervioso autónomo (87), antes, durante y, posteriormente, al tratamiento de Acupuntura.

La evidencia científica indica que el tratamiento de Acupuntura, no sólo activa distintas regiones del cerebro en múltiples tipos de enfermedades, causadas por el desequilibrio entre las actividades simpáticas y parasimpáticas, sino que también modula los neurotransmisores adaptativos en regiones cerebrales relacionadas para modular la respuesta autonómica (219,220).

Uno de los objetivos del estudio ha sido valorar las concentraciones séricas de hormonas implicadas en la activación del SNA que, además, están implicadas en la respuesta del organismo al estrés, como las hormonas del eje HHA: ACTH y cortisol, las catecolaminas (epinefrina, norepinefrina y dopamina) y la serotonina.

Las concentraciones de estas hormonas pueden estar influenciadas por numerosos factores, como por ejemplo, la hora de la toma de muestras, puesto que muchas de ellas presentan un ritmo circadiano que hay que tener en cuenta a la hora de diseñar el experimento, el manejo de los animales, a los que hay que acostumbrar a la colocación del catéter intravenoso, el lugar de realización del experimento, puesto que tuvimos que desechar alguna localización, al coincidir la hora de las extracciones con la administración de la comida, los caballos oían el vehículo en el que la comida era transportada y, se mostraban intranquilos y atentos, e incluso se quitaban las agujas de Acupuntura. Por todo lo anterior, el diseño experimental deber realizarse de una forma adecuada, con el fin de que los resultados obtenidos, no sean un reflejo de la influencia de estos factores externos, sino la respuesta al tratamiento de Acupuntura aplicado a los animales. Por ello, todas las muestras de sangre se obtuvieron en las mismas condiciones para los animales del estudio, incluyendo el transporte a un solo lugar, y con distancias similares.

La elección del muestreo matutino para todos los animales, ayudó a mitigar cualquier posible diferencia en la concentración de cortisol y otras hormonas debido al ritmo circadiano (101,102). Además, al incluir solamente animales adultos, obtuvimos dos grupos homogéneos en la media de edad (media de edad del grupo I: 13,4 años; media de edad del grupo II: 12,8 años; media de edad de ambos grupos: 13,1 años), importante para los valores hormonales (105), ya que se han descrito aumentos relacionados con la edad, en las concentraciones de cortisol en potros y ponis (221).

### **2.1.1. Concentraciones séricas de ACTH y cortisol como respuesta del Eje HHA a la Acupuntura:**

Nuestros resultados obtenidos respecto a la ACTH y al cortisol sérico son que, para ambas variables, se registra un ascenso de sus valores tras la realización de la punción. En el caso de la ACTH sus niveles se elevan hasta alcanzar su valor máximo a los 45 minutos tras la punción, posteriormente, tras la retirada de las agujas estos niveles descienden quedando finalmente similares a los valores obtenidos al inicio del estudio. No hay diferencias significativas entre el grupo I y el grupo II. Los estudios (102) relacionan íntimamente la

liberación de ATCH por parte de la hipófisis anterior ante situaciones de estrés, por lo que la medición de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal es un buen enfoque para el estudio del estrés inducido en caballos, monitoreando la secreción de los niveles circulantes de  $\beta$ endorfinas, ACTH y cortisol (87,95).

Los niveles de cortisol también se elevan tras la punción, pero alcanzando su máximo tras 15 minutos de tratamiento, para comenzar a descender y alcanzar su registro mínimo tras la retirada de las agujas a los 60 minutos. Su valor final es inferior al valor de inicio. Tampoco se observan diferencias estadísticamente significativas en las medias de cortisol entre los dos grupos, en los distintos momentos del estudio.

La respuesta del tratamiento de Acupuntura sobre el SNA es clara, en un primer momento, se observa una activación del SNAS, puesto que el efecto de la colocación de las agujas estimula el eje HHA, observándose, en ambos casos, una elevación significativa en las concentraciones de las dos hormonas, respecto a la situación basal. En el caso del cortisol, este efecto desaparece de forma gradual alcanzando el mínimo a los 30 minutos y manteniéndose los niveles muy por debajo de los basales, al final del tratamiento, por lo que, a nivel de la corteza adrenal, el tratamiento lo que va produciendo es una inhibición del SNAS. El perfil de la ACTH es completamente distinto, porque parece que el efecto de la activación del SNAS sobre la hipófisis se sigue manteniendo, en el caso de esta hormona. Estos resultados, podrían estar relacionados con la acción de la ACTH sobre la médula adrenal, como consecuencia del tratamiento de Acupuntura, puesto que, como veremos posteriormente, el perfil de la epinefrina, va a estar íntimamente relacionado con el de la ACTH.

No hemos encontrado estudios que midan la secreción de estas dos hormonas en caballos, como resultado de un tratamiento de Acupuntura, solo se han realizado estudios en los que se valoran distintos tratamientos de Acupuntura (196,198,215,222) y, ningún estudio en el que se realice un tratamiento igual al empleado por nosotros y se valore la respuesta de secreción de ACTH y cortisol como consecuencia de la Acupuntura. Solo uno de ellos, (202), relaciona la Acupuntura con respuestas autonómicas y endocrinas. Estos autores provocan un estrés en los caballos, asustándolos, el estudio se realizó en tres grupos de caballos, el primer grupo recibió, previamente, un tratamiento en puntos de Acupuntura, al segundo grupo se le puso agujas, pero en puntos no relacionados con la Acupuntura y un tercer grupo no recibió tratamiento previo. Los puntos de Acupuntura que emplean son muy diferentes a los empleados por nosotros y el tiempo de aplicación del tratamiento solo es de 20 minutos.

Nuestro estudio parte del animal en reposo, evitando, en lo posible, cualquier tipo de estrés. Sin embargo, sí obtienen resultados similares a los nuestros, en los perfiles de cortisol sérico y en la relajación que consiguen en los caballos con la administración de la Acupuntura.

Los estudios realizados con electro-acupuntura consideran que este tipo de estimulación causa liberación de endorfinas y ACTH desde la hipófisis. La ACTH indujo la liberación de cortisol de las glándulas adrenales. Los niveles de cortisol en sangre de los caballos aumentaron significativamente después de 30 minutos de tratamiento con electro-acupuntura. La liberación de opiáceos endógenos fue importante para obtener una analgesia con Acupuntura (165).

En el estudio en el que provocan un susto a los caballos, se valora el nivel de cortisol y el HRV en situación basal, antes del susto y después del susto. Las conclusiones de este estudio son, que con el tratamiento de Acupuntura realizado se puede modular el tono simpático-vagal cardíaco a favor de la predominancia parasimpática. No registran cambios en la FC, pero sí un descenso del HRV en los tres grupos de estudio. Respecto al cortisol, se registra un descenso de sus niveles en el grupo que recibió el tratamiento de Acupuntura sin que haya cambios apreciables en su respuesta conductual.

Existen estudios que relacionan los cambios de los niveles de ACTH,  $\beta$ -endorfinas y cortisol con los ejercicios de salto en el caballo, considerando que la  $\beta$ endorfina y la ACTH no se ven afectadas por la carga de trabajo, pero, observándose un aumento del cortisol inducido por el ejercicio, por lo que este aumento, podría no ser debido a una estimulación de la ACTH o por la influencia de la  $\beta$ endorfina. En hallazgos relacionados con los seres humanos, muchos estudios mostraron una variación considerable entre los individuos en la respuesta psicológica al estrés, induciendo un aumento en la secreción de epinefrina, NE y ACTH como respuesta a éste, pero no de cortisol. Más aún, otros autores han encontrado una diferencia individual significativa en la activación del eje HHA en respuesta al estrés psicológico y físico (95, 101,201).

La falta de correlación entre los cambios de ACTH y cortisol en los grupos de caballos podría indicar que se trataba de una respuesta diferenciada de las dos hormonas en las mismas situaciones, probablemente relacionada con diferentes respuestas al estrés mental, de acuerdo con estudios previos que sugirieron un mecanismo nuevo que justifique el aumento de ACTH en plasma (95,104) y no esté relacionado con el estímulo de la secreción de glucocorticoides por la corteza adrenal.

Además, varios estudios en diferentes especies, han indicado que existe un factor biológico capaz de modular la liberación adrenal de glucocorticoides independientemente de la ACTH hipofisaria durante diferentes condiciones de estrés o enfermedad (89,95).

### **2.1.2. Concentraciones séricas de epinefrina y norepinefrina como respuesta del Eje simpático-adrenal a la Acupuntura:**

Las catecolaminas son parte fundamental en los mecanismos integrativos, tanto neurales como endocrinos. Esta integración de Sistemas se debe a la unidad anatómica y fisiológica que forman el SNAS y la médula adrenal conocido como el sistema simpático-adrenal. Este sistema juega un papel fundamental, junto con el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (CRH-ACTH-Cortisol), en las respuestas al estrés.

Hay estudios que afirman que el estrés agudo también puede provocar un desplazamiento del sistema nervioso autónomo hacia la dominación simpática con el aumento de la liberación de epinefrina (222).

La respuesta obtenida en nuestro estudio respecto a los niveles de epinefrina y norepinefrina ha sido de ascenso para la epinefrina y de descenso para la NE en los primeros 45 minutos. Esto puede ser un indicativo de activación del tono simpático o inhibición del tono parasimpático, y es una clara respuesta del SNA (203,223).

Al retirar las agujas los valores de la epinefrina descienden siendo finalmente inferiores a los tomados en el inicio. La NE asciende levemente al quitar las agujas, siendo, al igual que en el caso de la epinefrina, su valor final menor que el inicial.

La interpretación que damos de estos cambios en los valores de las catecolaminas, es que tras la estimulación del organismo con el tratamiento de Acupuntura generamos una modulación del SNA, de tal forma que, según los cambios registrados al principio se genera una estimulación del tono simpático o una inhibición del tono parasimpático que, tras la retirada de las agujas, invierte su efecto, siendo finalmente después del tratamiento, predominante el aumento del tono parasimpático o inhibitorio del simpático como signo de relajación (202,205,222).

Nuestros resultados sugieren, como en otros estudios, que el sistema nervioso autónomo y el eje simpático-medular del caballo pueden ser estimulados, eficientemente, por diferentes estímulos, entre los que se encuentran diferentes tratamientos de Acupuntura, y estas

hormonas pueden ser utilizadas, tanto en la evaluación del estrés inducido (224,225), como para comprobar los efectos de los tratamientos de Acupuntura sobre la activación/inhibición del SNA.

### **2.1.2. Concentraciones séricas de serotonina y dopamina en respuesta a la Acupuntura:**

La dopamina es una hormona y un neurotransmisor que en el sistema nervioso central cumple varias funciones: en el comportamiento y en la cognición, la actividad motora, la motivación y la recompensa. Las conexiones eferentes desde la amígdala hacia la sustancia negra lateral filtran los estímulos afectivos procedentes del exterior.

El déficit en el funcionamiento de los sistemas dopaminérgicos puede conducir a la percepción de estos estímulos como amenazantes.

Por su parte la serotonina tiene el papel de hormona, neurotransmisor y neuromodulador. Su distribución por el organismo es muy amplia, se encuentra en el SNC, SNP, músculo liso y plaquetas (102, 105,201).

Hay estudios que muestran, que se miden mayores concentraciones de serotonina en los grupos de enfermedad crónica o cirugía corta. Concentraciones altas de serotonina parecen estabilizar la actividad del eje HHA y concentraciones bajas parecen inducir o facilitar el estrés o estados agresivos (17, 20,44).

Además, muchos estudios apuntan a una relación entre los déficits en el sistema nervioso serotoninérgico y la hiperactividad del eje HHA (102,225). Su secreción y acciones fisiológicas median el estrés y el dolor a través de funciones del sistema inmunológico y nervioso por el eje HHA (219).

Estudios realizados en humanos afirman que, en el cerebro, algunos neurotransmisores y hormonas, incluyendo serotonina, péptidos opioides, catecolaminas y aminoácidos parecen participar en el mecanismo de modulación de la Acupuntura para ciertas alteraciones del SNA (220).

Las concentraciones séricas de serotonina y de dopamina que hemos medido durante nuestro estudio, muestran un ascenso importante de la primera tras realizar la punción alcanzando su valor máximo a los 60 minutos, tras lo cual desciende, pero siendo finalmente sus valores más altos que los del primer registro. Por su parte la dopamina sufre un descenso tras la colocación

de las agujas, alcanza su mínimo a los 60 minutos siendo al final del estudio sus niveles más bajos que al inicio del mismo.

Resultan muy interesantes los cambios de estas hormonas ya que como se puede comprobar en su gráfica de los Resultados, tras la aplicación del tratamiento de Acupuntura, sus perfiles séricos son antagónicos.

Otros autores (165,195,215) han llegado a conclusiones similares respecto a estas hormonas, la explicación que propones es que la Acupuntura genera una activación del núcleo del rafe que atenúa las respuestas simpato-excitatorias cardiovasculares a través de un mecanismo que involucra neuronas serotoninérgicas y receptores  $\alpha 1$  en la región ventrolateral medular.

Otros estudios aportan datos obtenidos *in vivo* que han demostrado, más recientemente, que la contractilidad del tracto gastrointestinal en caballos está modulada por receptores 5-HT (105,107).

En caballos adultos, hay trabajos (105) que explican la correlación negativa entre el 5-HT y el cortisol en base a la relación del sistema serotoninérgico con el eje HHA. Los resultados de este estudio mostraron una influencia de la edad en las concentraciones plasmáticas de 5-HT, lo que sugiere una interacción de esta variable biológica con el metabolismo plasmático de 5-HT.

Estos estudios muestran una mayor absorción de 5-HT plaquetario que podría reflejar un aumento de la actividad serotoninérgica del sistema nervioso central. Las neuronas extrínsecas se encuentran fuera de la pared del tracto gastrointestinal y permiten la comunicación entre el cerebro y el tracto gastrointestinal, a través de inervaciones parasimpáticas y simpáticas (105,107). Posteriormente relacionaremos esta información con la actividad urogenital e intestinal registrada por observación directa en nuestro estudio.

Además de valorar las hormonas relacionadas con los SNC y SNA, en este estudio hemos registrado los cambios producidos en diferentes funciones vitales que están relacionadas con el SNA, ya sea por activación del tono simpático o inhibición del tono parasimpático o todo lo contrario, es decir por la activación del sistema parasimpático con el consecuente descenso del tono simpático (205).

## **2.2. Efecto del tratamiento de Acupuntura sobre las variables cuantitativas: FC, FR, PAS, PAD y Temperatura.**

Los cambios observados y registrados, a consecuencia del tratamiento de Acupuntura administrado a los caballos, en la FC, FR, PAS, PAD y temperatura, están íntimamente relacionados con la modulación del SNA inducida por el tratamiento de Acupuntura realizado en este estudio.

### **2.2.1. FC.**

Otros autores (205) recogen también los cambios producidos por la activación del SNA en relación con el efecto sedante de ciertas técnicas. Afirman que el SNA, por activación de la porción simpática o parasimpática, controla la tendencia natural del cuerpo de responder ante el estrés y la vuelta a la calma. La activación del SNAS incluye el aumento de la FC y favorece el estado mental de alerta que permite la respuesta ante un agresor. Por su parte el SNAP induce un estado de relajación para volver al estado de homeostasis. En este estudio los autores dan mucha importancia al comportamiento del caballo ante ciertas circunstancias, ya que un caballo estresado con un comportamiento inadecuado genera una situación peligrosa para quien lo maneje y, proponen la realización de técnicas de masaje y acupresión como tratamiento de la ansiedad en los caballos, ante situaciones estresantes.

Otro estudio (204) realizado en caballos, en el que se analiza cómo afecta la Acupuntura a la FC (22,76,113) y a la variabilidad del ritmo cardíaco, asegura que los cambios de la FC están generados por un aumento del tono parasimpático que conlleva un descenso del tono simpático; el descenso de la FC corresponde al equilibrio entre el SNAS y el SNAP, mientras que la subida de la FC está relacionada, exclusivamente, con la activación del SNAS. Los autores de este estudio mencionan otros estudios previos que indican que estos cambios en la FC son un indicativo del equilibrio del SNA.

Un estudio reciente (222) respecto a los efectos del estrés en el SN del caballo indica que el estrés agudo genera un cambio en el SNA a favor de la dominancia del simpático y, con aumento de la epinefrina liberada que induce un aumento de la FC y un descenso de la variabilidad del ritmo cardíaco, lo que muestra la influencia antagónica oscilatoria de la parte simpática y parasimpática del SNA sobre el nodo sinusal del corazón.

En nuestro estudio tras la colocación de las agujas la FC disminuye hasta alcanzar un valor mínimo a los 30 minutos, posteriormente, se eleva levemente y se pronuncia más la subida

con la retirada de las agujas. Podemos decir que tras la realización del estímulo acupuntural, se produce un cambio en el SNA, a favor de la dominancia parasimpática que se mantiene durante 30 minutos tras la punción. Posteriormente, este aumento del tono parasimpático disminuye produciendo un aumento de la FC hasta que, en el último registro, sus valores son ligeramente más altos que los registrados en el inicio de la experimentación.

### **2.2.2. FR.**

La FR es una variable poco estudiada en los trabajos revisados sobre los efectos de la Acupuntura en el caballo. Los estudios recogen información sobre la relación entre el estrés y el aumento de la frecuencia respiratoria, durante la fase de alarma por activación del SNAS. También se sabe que el descenso de la FR está condicionado por la activación del SNAP (75).

Desde el punto de vista neurofisiológico, la respiración se puede definir como un tipo de conducta (88). Ante un estresor el volumen minuto aumenta por el estado de excitación, con aumento de la frecuencia respiratoria. Los estados de relajación se acompañan de una ligera disminución del volumen minuto, con disminución de la frecuencia respiratoria y aumento de la amplitud respiratoria.

En relación con la activación del SNA, un estudio (226) encontró que los estímulos del sistema nervioso autónomo sobre la frecuencia respiratoria, disminuyen la variabilidad con respecto al estado basal, independientemente de si el estímulo es simpático o parasimpático. Esto evidencia la compleja interacción entre el sistema nervioso autónomo y los centros de control respiratorio, contrario a lo que clásicamente se ha dicho. En conclusión un estímulo autonómico sea simpático o parasimpático organiza y modula, como respuesta al estrés, el patrón respiratorio.

Las fibras autonómicas aferentes, encargadas de mediar la sensación visceral y la regulación de reflejos vasomotores y respiratorios, son importantes en el control del ritmo cardíaco, presión sanguínea y actividad respiratoria. Estas fibras aferentes son transportadas al SNC por nervios autonómicos principales como el vago, el esplácnico o los nervios pélvicos.

De ahí que podamos pensar que la aplicación de técnicas acupunturales con un fin sedativo o relajante podría provocar algún cambio en la FR del caballo.

Un estudio (195) que contempla esta opción acerca de los efectos de la fármacopuntura y acuapuntura, no registra ningún cambio para esta variable, si bien es cierto que afirma reducir el nivel de estrés en los caballos del estudio, basándose en los cambios inducidos en la FR.

El mismo resultado encontramos en otros estudios (227,228), en los que se realiza una valoración de cambios de FR, en relación con diferentes tratamientos de Acupuntura y electro-acupuntura, en los que registran los cambios producidos a nivel respiratorio, hemodinámico y en las  $\beta$ endorfinas. En este estudio (228) sólo evidencian resultados del tratamiento en la concentración sérica de las  $\beta$ endorfinas.

En nuestro trabajo se han recogido los cambios en la FR, donde se observa un descenso tras la realización de la punción que alcanza un valor mínimo a los 45 minutos. Tras la retirada de las agujas los valores de la FR ascienden siendo al final del estudio similares a los valores registrados en el inicio.

Éste es un indicativo de la relajación provocada en el animal por un aumento del tono parasimpático que es más acusado en el grupo II, debido probablemente a las condiciones de manejo que tienen estos caballos.

### **2.2.3. PAS y PAD.**

El sistema nervioso simpático, a través de epinefrina y norepinefrina y la activación simpática renal provoca un aumento sostenido de la presión arterial por la liberación de renina que pone en marcha el sistema renina-angiotensina-aldosterona.

La Acupuntura se ha recomendado como una terapia complementaria para la hipertensión. En 1996, 64 indicaciones de acupuntura fueron declaradas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en la conferencia de Milán incluyendo la hipertensión (229).

Numerosos estudios (230,231) en animales y en humanos han informado de la eficacia de la Acupuntura en el tratamiento de la hipertensión. Aunque hay un cierto desacuerdo entre los informes, la mayoría de ellos indican que la Acupuntura produce una disminución significativa de la presión arterial. Sin embargo, el mecanismo subyacente a través del cual la Acupuntura reduce la presión arterial aún queda por esclarecer.

Los estudios (227,228) revisados que contemplan los posibles cambios en la presión arterial por efecto de la Acupuntura, afirman que estos cambios son mínimos o inexistentes.

Hemos valorado y registrado en nuestro trabajo, de manera independiente, los valores alcanzados por la PAS y la PAD desde el inicio del estudio hasta los 75 minutos. En ambos casos, se registra un leve descenso de la presión arterial tras la colocación de las agujas, en el caso de la sistólica alcanza su mínimo valor a los 30 minutos y al final del estudio sus valores son ligeramente inferiores a los iniciales. La PAD alcanza su mínimo tras los 60 minutos, siendo su registro final también inferior al inicial.

Podemos decir que sí hay un cambio en ambas presiones arteriales tras la realización de la punción, pero no se observa un cambio importante con el hecho de retirar el estímulo.

#### **2.2.4. Temperatura.**

Respecto a la temperatura corporal, se considera un indicativo de la respuesta simpática o parasimpática por la vasodilatación o la vasoconstricción respectiva.

Hay estudios que aseguran que se podría influir en algunos indicadores conocidos de actividades del SNA, tales como la presión arterial, tamaño de la pupila, conductancia de la piel y la temperatura de la piel entre otras (220,232).

Nosotros no hemos encontrado evidencia de estos cambios en la temperatura corporal, esta variable sufre pequeñas oscilaciones en ambos grupos sin que esto tenga significación estadística. En nuestro estudio la Acupuntura parece tener un efecto inexistente sobre esta variable, al igual que en otros estudios revisados (195,227,228).

### **2.3. Efecto del tratamiento de Acupuntura sobre las variables cualitativas estudiadas.**

Para evaluar el grado de relajación de los caballos, hemos utilizado el método observacional directo, para describir a través de la percepción del observador, los gestos que son indicativos de la activación del Sistema Nervioso Autónomo.

### 2.3.1. Constricción pupilar.

El iris es un diafragma que adapta su orificio central, o pupila, a la cantidad de luz ambiental, de forma que en condiciones de alta luminosidad la pupila se encuentra contraída -miosis- y en condiciones de oscuridad se encuentra dilatada -midriasis-, regulando de esta forma la cantidad de luz que llega a la retina. Esta adaptación la realiza a merced del estado de contracción o relajación de 2 músculos:

- Músculo esfínter del iris o esfínter pupilar que presenta fibras circulares y concéntricas y está innervado por el Sistema nervioso Autónomo Parasimpático.
- Músculo dilatador del iris con células ciliares radiales, está innervado por el Sistema nervioso Autónomo Simpático.

Cuando estos dos Sistemas no trabajan de manera equilibrada nos podemos encontrar con:

- Midriasis: estado de exceso de dilatación pupilar resultado de una activación excesiva del SNAS o Simpaticotonía. Esta alteración suele ir acompañada de parálisis digestiva, boca seca, estreñimiento, agotamiento, aumento de la temperatura, taquicardia y aumento de la FR.
- Miosis: estado de exceso de contracción por una sobreactividad del SNAP o Parasimpaticotonía. Otros signos que se pueden presentar son: cansancio, respiración lenta, hipersecreción de ácidos gástricos, diarreas y bradicardia.
- El reflejo fotopupilar está gobernado por el sistema nervioso autónomo y con él se evalúan tanto las propiedades parasimpáticas como simpáticas. La activación masiva del Sistema Nervioso Autónomo Simpático produce la dilatación pupilar (midriasis) para permitir mayor captación del campo visual. Por el contrario cuando la activación se debe a la activación del Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático, la pupila sufre una vasoconstricción (miosis) para proteger a la retina de un exceso de iluminación (56,81,187).

El tratamiento de Acupuntura seleccionado para este estudio, no produce ningún efecto sobre este parámetro ni hemos encontrado ningún estudio que recoja este tipo de información, aunque sí se contempla como posible efecto de la Acupuntura sobre el SNA (220).

### **2.3.2. Activación urogenital e intestinal.**

La activación urogenital e intestinal entendiéndola como relajación de los genitales y vaciamiento de la vejiga e intestino, está relacionada con la actividad del Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático ya que éste es el responsable de las funciones de protección y conservación. Los componentes funcionales del SNAP no actúan simultáneamente en condiciones normales, sino que participan en reflejos específicos o en reacciones integradas para promover una función visceral concreta. Así, la estimulación de distintos núcleos de neuronas parasimpáticas va a promover respuestas como, constricción pupilar, disminución de la frecuencia cardíaca, actividad urinaria y micción, activación genital y activación intestinal (23,26,27).

En las columnas intermediolaterales de los segmentos sacros segundo y cuarto se encuentran las neuronas preganglionares parasimpáticas que distribuyen sus fibras por las raíces anteriores, formando así los nervios pélvicos y ganglios pélvicos dando lugar finalmente al plexo pélvico, responsable de la inervación del colon descendente y órganos urogenitales.

Por tanto, la activación urogenital e intestinal está regulada por el SNA, la activación del tono simpático produce una inhibición de la función gástrica y urogenital. El efecto contrario es generado por la activación del tono parasimpático responsable de la actividad genital, urinaria, la micción y la defecación (56,69,71,72,73).

No hemos encontrado ningún estudio que registre la actividad urogenital e intestinal en relación al posible efecto relajante de la Acupuntura en caballos y nuestro estudio aporta una información muy interesante.

Tras la colocación de las agujas en los puntos seleccionados, la actividad urogenital e intestinal aumenta significativamente, alcanzando el mayor porcentaje a los 30 minutos, siendo el 83% de los ejemplares los que muestran algún tipo de actividad.

Tras la retirada de las agujas esta activación desciende hasta implicar sólo al 20% de los ejemplares.

Podemos decir que la realización de la estimulación acupuntural en los puntos propuestos induce una gran actividad en el sistema urogenital e intestinal como reflejo claro de un aumento de la actividad del SNA.

### **2.3.3. Efecto del tratamiento de Acupuntura sobre variables comportamentales.**

El comportamiento y los gestos del caballo son la exteriorización de la influencia psicológica, hormonal y neurológica. Por ello, nos ha parecido muy interesante valorar el efecto del tratamiento de Acupuntura utilizado, sobre una serie de variables comportamentales.

#### **2.3.3.1. Posición de la cabeza.**

La altura de la cabeza y los movimientos de la misma, son un reflejo de un comportamiento nervioso del caballo. Según algunos autores (205) cuando el caballo se encuentra relajado baja la cabeza y este movimiento puede ir acompañado de gestos faciales de tranquilidad, como son la masticación, la caída del párpado, la relajación de los labios y ollares. De hecho, se relaciona la posición de la cabeza con el aumento o disminución de la FC y con el aumento o disminución, respectivamente, de la secreción de hormonas relacionadas con el estrés.

En nuestra observación hemos registrado que el 53% de los ejemplares mostraban una posición baja de la cabeza a los 30 minutos de haber realizado la punción. Este porcentaje varió significativamente con la retirada de las agujas, encontrándonos al final del estudio con que, los animales no daban muestras de estar nerviosos y se encontraban en un estado de normalidad. Así que podemos decir que respecto a la posición de la cabeza el tratamiento de Acupuntura realizado fue efectivo, como muestra de relajación.

#### **2.3.3.2. Posición de las orejas.**

Los caballos controlan el medio que les rodea con la vista y con las orejas, dirigiendo éstas últimas hacia zonas que despierten atención en ellos. Además, las orejas forman parte importante del lenguaje no verbal del caballo, son indicativo de relajación cuando están mirando cada una hacia un lado y sin tensión, o pueden serlo de enfado cuando se repliegan hacia atrás (43).

En nuestro estudio, tras la realización de la punción, un 60% de los animales muestran las orejas relajadas en los momentos 30 y 45. Tras retirar las agujas este porcentaje desciende siendo finalmente del 30%, aproximadamente.

Por ello podemos valorar un cambio significativo en el gesto de las orejas de los caballos, tras realizar el tratamiento de Acupuntura, indicando, de nuevo, un efecto relajante del tratamiento, sobre los animales.

### **2.3.3.3. Gesto de la boca, de los ollares y de los ojos.**

Ante situaciones de estrés o que despierten inquietud en los caballos, estos muestran expresiones faciales indicativas de su estado. Entre ellas se encuentran el gesto de la boca que puede mostrar tensión cuando los labios están apretados, o relajación cuando descuelgan el labio inferior, el gesto de los ollares que pueden presentarse contraídos y abiertos ante una situación inquietante para el ejemplar, y por último, el gesto de los ojos, especialmente los párpados que, pueden estar muy abiertos ante algún hecho que pueda estresar al caballo o, por el contrario, encontrarse entrecerrados como muestra de relajación (88,169,187,188).

Registramos en nuestro estudio que, 30 minutos tras la realización de la punción, un 80% de los caballos presentaban un gesto relajado en su boca y no registramos ningún ejemplar con tensión en la zona analizada. Con la retirada de las agujas el porcentaje baja significativamente hasta un 23%.

El tratamiento acupuntural muestra gestos de relajación en los ejemplares tras la realización de la punción. También evaluamos que estos cambios revierten con la retirada de las agujas, pero sin llegar a alcanzar los valores basales.

Por lo que respecta al gesto de los ollares, se sabe que cuando los caballos muestran los ollares tensos y contraídos es un claro indicativo de tensión o estrés.

El registro de esta variable indica que tras la punción, el porcentaje de caballos que mostraban relajación en esta zona, aumentó significativamente hasta alcanzar el 60% a los 30 minutos y el 63% a los 45 minutos. Posteriormente, al retirar el estímulo de las agujas se registra alrededor del 30% de caballos con los ollares relajados. Se observa un cambio importante tanto al poner las agujas como tras la retirada de las mismas.

Como ya hemos mencionado con anterioridad, los gestos faciales son una muestra del estado mental del caballo. Cuando los animales están tensos o inquietos, los ojos se encuentran activos y muy abiertos, con la atención puesta en el objeto que consideran preocupante. Por el contrario, cuando el ejemplar se encuentra relajado muestra el ojo con mirada tranquila y con el párpado superior relajado.

Este parámetro no sufrió grandes cambios hasta el cuarto registro (momento 45'), en el que la mitad de los caballos mostraban los párpados relajados. El tratamiento de Acupuntura no produjo grandes cambios en esta variable.

#### **2.3.3.4. Posición de las manos y de los pies.**

Un signo de inquietud o de nerviosismo en los caballos se puede ver en el movimiento de sus manos al estar atado tiempo en el mismo sitio. El manoteo llevado a cabo por los caballos puede denotar nerviosismo o aburrimiento (43).

Podemos decir que tras la realización de la punción de Acupuntura, el porcentaje de caballos que presenta quietud en sus manos asciende hasta el 64% a los 30 minutos. Al retirar las agujas aumenta el porcentaje de caballos que muestran inquietud en sus manos, pasando de un 3% en el momento 30' hasta el 24% al final del estudio. Podemos decir que la retirada de las agujas hace que los caballos comiencen a dar muestras de inquietud, reflejado en el movimiento de sus manos.

Al igual que el movimiento de las manos, los pies también son un signo de inquietud o aburrimiento en los caballos atados.

Para esta variable se observa un cambio importante con la realización de la técnica y tras la retirada de las agujas.

#### **2.3.3.5. Posición de la cola.**

El estado de ánimo de un caballo puede verse reflejado, también, en la posición y movimiento de su cola. Cuando un caballo está nervioso o incomodo la agita vigorosamente con frecuencia y la mantiene en una posición alta. Cuando la coloca en una posición baja y relajada muestra estar cómodo y sin tensión (169,188).

Podemos decir que, el tratamiento de Acupuntura solo ha sido efectivo en los ejemplares del grupo I, lográndose un 100% de efectividad en varios momentos (15', 30' y 60'), manteniéndose, además, este efecto hasta el final de la experimentación, en el que un 95% de los caballos de este grupo todavía presentaban la cola relajada. Estos resultados están relacionados con la presencia de los signos que son indicativo de la activación del SNAP.

### **2.3.3.6. Estado General del caballo.**

Hemos encontrado pocos trabajos que realicen una observación directa de los gestos de los caballos o que registren el comportamiento de los animales, como información valiosa para la determinación de la estimulación o no del SNA, y como indicativo de relajación.

Valorando a los ejemplares desde la globalidad, observando sus gestos y su lenguaje no verbal durante el tiempo de estudio, podemos decir que, tras la realización de la punción de Acupuntura se observa un cambio en el comportamiento de los mismos. Así, 15 minutos tras la punción, un 67% de los ejemplares muestran encontrarse relajados frente a un 3% que se muestran intranquilos y un 30% que se encuentran en un estado de normalidad. Antes de la retirada de las agujas, en el cuarto registro, hay un 93% de caballos que se muestran relajados, en esta ocasión no se registra ningún caballo con gestos de inquietud. Tras la retirada de las agujas estos porcentajes se modifican, aumenta el número de caballos que se muestran en un estado normal, aun así en estos valores finales frente a los iniciales hay un diferencia de un 34% más de caballos que están relajados, el porcentaje de caballos que están en un estado normal es el mismo y un 34% menos de caballos que se muestren inquietos.

Algunos estudios realizan grabaciones de todo el proceso de estudio para posteriormente llegar a una conclusión general valorando las respuestas comportamentales (202).

La observación de estas muestras de comportamiento se ha realizado en el mismo periodo de tiempo que la recogida de las variables objetivas cuantificables, para posteriormente, estudiar si hay correlación entre ambos datos. Pero creemos que el tiempo de estudio ha sido insuficiente para valorar en el tiempo el efecto modulador del SNA.

De las 10 variables cualitativas testadas con el Test chi cuadrado, 7 de ellas (70%) mostraban significación estadística en el momento 15'. El siguiente momento con mayor significación estadística es el momento 30' que se da en 4 de las variables (40%).

En la mayoría de los gráficos se pueden observar los cambios que acontecen después de la punción (a los 15 minutos del inicio) y cómo muchos de ellos se vuelven a modificar tras la retirada de las agujas (a los 45 minutos desde la punción).

En nuestro estudio no encontramos diferencias reseñables entre los datos obtenidos entre caballos enteros y castrados (102,222). Las diferencias encontradas entre ambos grupos las relacionamos, principalmente, con la diferencia de manejo que tienen los ejemplares. La

mayoría de los caballos que forman parte del grupo I son animales acostumbrados al manejo por diferentes personas y a ambientes más ruidosos, en cambio los caballos del grupo II son manejados por pocas personas y las instalaciones donde se encuentran estabulados son más tranquilas.

Para este tipo de variables estudiadas no hemos encontrado ningún trabajo que señale diferencias entre machos castrados, enteros y hembras pero sí con los potros (105).

El propósito de nuestro estudio fue comparar la evaluación conductual, la observación subjetiva, los parámetros clínicos y los ensayos hormonales como métodos para estimar la relajación del caballo durante y después del tratamiento de Acupuntura elegido.

Nuestros resultados proporcionan pruebas de posibles efectos directos o indirectos de la activación del Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático con el protocolo de Acupuntura seleccionado. Habría que puntualizar que, dependiendo de la variable, hay una alternancia entre los dos sistemas, pero con una predominancia del SNAP, de ahí la relajación observada tras el tratamiento.

Los resultados, incluso para los animales de estudio, son difíciles de comparar con los de la literatura debido a la escasez de información publicada relevante.

Los resultados obtenidos en este estudio y los revisados de otros autores que siguen similares líneas de investigación, nos llevan a afirmar que la Acupuntura es una técnica terapéutica y una parte de la medicina tradicional china que se ha comprobado que tiene eficacia clínica en trastornos relacionados con el sistema nervioso autónomo, tales como enfermedades cardiovasculares (195,204,215,222), ansiedad y nerviosismo (165,195,197,202,204,196,215,), trastornos del ritmo circadiano (220), síndrome de ovario poliquístico (233,234) y subfertilidad (198,208,235,236,237) en animales. Un número creciente de estudios han demostrado que la Acupuntura puede controlar las funciones del sistema nervioso autónomo incluyendo la presión arterial, el tamaño de la pupila, la conductancia de la piel, la temperatura de la piel, la frecuencia cardíaca y/o el pulso y la variabilidad de la frecuencia cardíaca.

Finalmente, estamos de acuerdo con otros autores en la creencia de la necesidad de seguir realizando estudios sobre los efectos de la MTCh y sus mecanismos de acción, debido a las amplias aplicaciones clínicas que podrían presentar de este tipo de técnicas.

# **Corolario de resultados**

---



Los resultados del presente estudio se pueden resumir de la siguiente manera:

Respecto a las hormonas séricas:

ACTH:

- ✚ Valores de perfil similar en ambos grupos en todos los momentos.
- ✚ Tras la punción: sus valores se elevan alcanzando el máximo a los 45 minutos.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: hay un descenso de sus niveles.
- ✚ Los niveles registrados al final son similares a los niveles de inicio.
- ✚ Según el test de Duncan no hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores iniciales y los finales, pero si respecto a los momentos en los que las agujas están punturadas.

Cortisol:

- ✚ Valores de perfil similar en ambos grupos en todos los momentos.
- ✚ Tras la punción: sus valores ascienden alcanzando su valor máximo a los 15 minutos para, posteriormente, descender a niveles más bajos que los registrados en S.B.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: sus valores siguen en descenso alcanzando el mínimo a los 60 minutos postpunción (15 minutos tras la retirada de las agujas).
- ✚ Su valor final es inferior al registrado al inicio del estudio.
- ✚ Según el test de Duncan hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores de inicio y los finales.

Epinefrina:

- ✚ Los valores tienen un perfil prácticamente idéntico en ambos grupos.
- ✚ Tras la punción: aumento progresivo de sus valores hasta alcanzar su máximo a los 45 minutos.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: sus valores descienden llegando a ser menores que los valores registrados al inicio a partir de los 15 minutos tras la retirada de las agujas (momento 60).
- ✚ Su valor final es inferior al registrado en la medición basal.
- ✚ El test de Duncan no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los valores de inicio y finales.

Norepinefrina:

- ✚ Ambos grupos presentan un perfil prácticamente idéntico.
- ✚ Tras la punción: descenso de sus valores alcanzando el mínimo a los 45 minutos.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: sufre un mínimo ascenso para posteriormente volver a descender en la medición del momento 75.
- ✚ Su valor al final del estudio es menor que los registrados en el inicio.
- ✚ El test de Duncan indica que hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores iniciales y finales.

Serotonina:

- ✚ Los valores para ambos grupos tienen una evolución similar.
- ✚ Tras la punción: se registra un ascenso importante de sus valores.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: sus niveles continúan subiendo hasta alcanzar el máximo a los 60 minutos tras la punción (15 minutos después de la retirada de las agujas) para, posteriormente, comenzar a bajar.
- ✚ Su valor final es más alto que los registrados en S.B.
- ✚ Según el test de Duncan hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores iniciales y finales.

Dopamina:

- ✚ Sus niveles presentan una evolución similar en ambos grupos.
- ✚ Tras la punción: descenso de sus niveles. Esta bajada es más importante a partir de los 15 minutos.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: sus niveles continúan en descenso hasta alcanzar su mínimo a los 60 minutos. Tras lo cual sufren un ascenso registrado en el momento 75.
- ✚ Sus valores finales son más bajos que los iniciales.
- ✚ Según el test de Duncan hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores de inicio y los finales.

Respecto a las variables cuantitativas:

Frecuencia cardiaca:

- ✚ No hay diferencias entre grupos, probablemente debido a que existe una acusada variabilidad individual.
- ✚ Tras la punción: sus valores descienden alcanzando su mínimo a los 30 minutos. Posteriormente, hasta el momento 45 sufren un leve ascenso.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: continúan subiendo hasta el final de los registros.
- ✚ Los valores finales de esta variable son más altos que los registrados al inicio.
- ✚ El descenso de la FC es más pronunciado en el grupo II.

Frecuencia respiratoria:

- ✚ Ambos grupos muestran un patrón similar.
- ✚ Tras la punción: se registra un descenso que alcanza el mínimo a los 45 minutos.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: la frecuencia respiratoria aumenta.
- ✚ Los valores de inicio y los finales son similares.
- ✚ Existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo I y II en el momento 45.

Presión arterial Sistólica:

- ✚ La evolución de la PAS en ambos grupos es ligeramente distinta, sin ser estadísticamente significativa, probablemente debido a la elevada variabilidad individual de los dos grupos.
- ✚ Tras la punción: descenso de los valores hasta alcanzar el mínimo a los 30 minutos. Posteriormente comienza a subir discretamente.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: vuelven a bajar.
- ✚ Los valores finales son ligeramente inferiores a los de inicio.
- ✚ Con el test de comparaciones múltiples, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada momento.

Presión arterial Diastólica:

- ✚ La evolución de la PAS en ambos grupos es ligeramente distinta, sin ser estadísticamente significativa.
- ✚ Tras la punción: discreto descenso de los valores registrados.
- ✚ Tras la retirada de las agujas: Continúa bajando hasta alcanzar el mínimo a los 60 minutos (15 minutos tras la retirada de las agujas). Tras lo cual asciende ligeramente hasta el registro final.
- ✚ El valor final es más bajo que el registrado al inicio.
- ✚ Con el test de comparaciones múltiples, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los valores.

Temperatura:

- ✚ Evolucionan de manera similar en ambos grupos, siendo levemente superior en el grupo I.
- ✚ Esta variable sufre pequeñas oscilaciones en ambos grupos sin que esto tenga significación estadística.
- ✚ El efecto de la Acupuntura sobre la temperatura es prácticamente inexistente.

Respecto a las variables cualitativas:

Constricción pupilar:

- ✚ El tratamiento de Acupuntura seleccionado para este estudio no produce ningún efecto sobre este parámetro.

Activación urogenital e intestinal:

- ✚ Tras la punción: su actividad aumenta significativamente, alcanzando el mayor porcentaje a los 30 minutos (83%).
- ✚ Tras la retirada de las agujas esta activación desciende hasta implicar sólo al 20% de los ejemplares.

Posición de la cabeza:

- ✚ Tras la punción: a los 30 minutos se obtiene el mayor porcentaje de caballos con la cabeza baja (53%) que es un signo de relajación. Presenta S.E. entre grupos en los momentos 15 y 30.

- ✚ Tras la retirada de las agujas este porcentaje baja sin que ningún ejemplar muestre nerviosismo o inquietud.

Posición de las orejas:

- ✚ Tras la punción: se obtiene el mayor porcentaje de caballos con las orejas relajadas a los 30 y 45 minutos.
- ✚ Tras la retirada de las agujas este porcentaje desciende, siendo en la medición final mayor el porcentaje de caballos con las orejas relajadas que en la situación basal. Presenta S.E. entre grupos en los momentos 60 y 75.

Gesto de la boca:

- ✚ Tras la punción: a los 30 minutos se obtiene el mayor tanto por ciento (80%) de caballos con la boca relajada y sin que haya presencia de ningún ejemplar con muestra de tensión en esta zona. Presenta S.E. entre grupos en los momentos 15, 30 y 60.
- ✚ Tras la retirada de la aguja el porcentaje desciende bruscamente hasta un 23%, registrando en la última medición un 3% de caballos son gesto tenso en la boca.

Gesto de los ollares:

- ✚ Tras la punción obtenemos el mayor porcentaje de ejemplares con los ollares relajados a los 30 y a los 45 minutos, donde alcanza su máximo, sin que se registre ningún animal con muestra de tensión.
- ✚ Tras la retirada de las agujas este porcentaje desciende significativamente. En la última medición hay un tanto por ciento mayor de caballos con los ollares relajados que al inicio, y el porcentaje de caballos con los ollares tensos desciende también en este último registro respecto al basal. Presenta S.E. entre grupos en los momentos S.B., 15, 45, 60, 75.

Gesto de los ojos:

- ✚ Tras la punción se obtiene el mayor porcentaje (50%) de caballos con los párpados relajados a los 45 minutos. No se registran caballos en este momento con tensión en el gesto de los ojos. Presenta S.E. entre grupos en los momentos S.B. y 15.

- ✚ Tras la retirada de las agujas a los 75 minutos se registra el mínimo de un 7% de caballos con gesto relajado en los ojos sin que haya ninguno con muestras de tensión o estrés.

Posición de las manos:

- ✚ Tras la punción, el registro porcentual de los ejemplares que presentan quietud en sus manos asciende frente a los que tienen sus manos inquietas. A los 30 minutos tras la punción encontramos el porcentaje más alto de caballos con las manos quietas. Presenta S.E. entre grupos en los momentos S.B. y 15.
- ✚ Tras la retirada de las agujas disminuye el porcentaje siendo finalmente similar al inicial.

Posición de los pies:

- ✚ Tras la punción se registra el mayor porcentaje de ejemplares con quietud en sus pies, a los a los 30 minutos tras la punción, manteniéndose alto hasta el momento 45. Presenta S.E. entre grupos en los momentos 15 y 60.
- ✚ Tras la retirada de las agujas, este porcentaje de caballos con escaso movimiento de los pies, desciende siendo al final del estudio mayor que al inicio.

Posición de la cola:

- ✚ La Acupuntura no genera cambios significativos para esta zona por media de ambos grupos.
- ✚ Valorando los grupos por separado, podemos decir que el tratamiento acupuntural sólo ha dado muestras de efectividad para la valoración de la posición de la cola en el grupo I.

Estado general:

- ✚ Tras la punción se observan los mayores porcentajes de caballos relajados a los 30 minutos y a los 45 minutos donde alcanza su máximo.
- ✚ Tras la retirada de las agujas el porcentaje de caballos con signos generales de relajación desciende, siendo aun así más alto que en los registros iniciales. Se recoge también un descenso en el porcentaje de los caballos inquietos a favor del estado normal de los ejemplares. Presenta S.E. entre grupos en los momentos S.B., 30 y 75.

# Conclusiones



1. La estimulación generada por el tratamiento de Acupuntura en el Sistema Nervioso Autónomo Simpático, produce una respuesta neuroendocrina sobre el eje Hipotálamico-hipófisario-adrenal durante el periodo en el que las agujas están punturadas.
2. Los cambios en los niveles de Serotonina y Dopamina obtenidos como consecuencia del tratamiento de Acupuntura realizado, son buenos indicadores del estado de relajación conseguida en los caballos.
3. Las variables cuantitativas y cualitativas registradas muestran una modulación inicial, relacionada con el aumento del tono simpático y, posteriormente, se registra un cambio a favor de la predominancia del tono parasimpático, considerándose como un comportamiento reflejo de la activación parasimpática.

**Conclusión final:** El tratamiento acupuntural pautado, consistente en la punción de Baihui, Vaso Gobernador 16 y Vejiga 60 (lado derecho), ha sido capaz de inducir una respuesta neuroendocrina en el caballo que implica tanto al Sistema Nervioso Autónomo Simpático como al Sistema Nervioso Autónomo Parasimpático.



# **Anexos**

---





**Departamento de  
Fisiología (Fisiología Animal)  
Facultad de Veterinaria**

**Ciudad Universitaria , s/n. 28040 Madrid**  
**Teléfono: 91 3943866**  
**Correos Electrónicos: [dp102@ucm.es](mailto:dp102@ucm.es);**  
**[gsilvang@vet.ucm.es](mailto:gsilvang@vet.ucm.es)**

Excmo. Sr. Coronel D. Ramón Álvarez de Toledo Álvarez de Builla  
 Casa del Rey  
 Paseo del Pardo s/n  
 28048-Madrid

Madrid, 19 de abril de 2013

Excmo. Sr. Coronel: en calidad de Directora del Departamento de Fisiología (Fisiología Animal) de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid y Directora Técnica del Laboratorio de Endocrinología, me pongo en contacto con Vd. con el fin de solicitar los permisos oportunos para la utilización de machos equinos pertenecientes a la Guardia Real, con el fin de desarrollar la parte experimental de una Tesis Doctoral, cuya memoria le adjunto.

La Acupuntura se está comenzando a utilizar en Veterinaria, como técnica complementaria a la Fisioterapia y se están intentando investigar otro tipo de aplicaciones, como las que planteamos en nuestro trabajo, cuyo objetivo principal es valorar el grado de activación del Sistema Nervioso durante la punción de determinados puntos y su permanencia al retirar las agujas.

Por ello, vamos investigar el efecto de un tipo específico de punción de acupuntura, la punción de tres puntos relacionados con el Shen o la mente:

- Bai-hui
- VG16
- V60 (sólo en el lado derecho).

El protocolo de obtención de muestras y los parámetros fisiológicos que se van a medir, están descritos en la memoria adjunta.

Este Doctorado comenzó hace dos años y tras trabajar con ejemplares de la Policía Nacional de Madrid y diversos Centros Hípicos de esta comunidad estamos obteniendo resultados muy interesantes respecto al tema de estudio principalmente en caballos castrados. No gustaría poder contar con sus ejemplares enteros para realizar una comparativa con los datos obtenidos, ya que al tener los niveles de testosterona más altos, podría haber variaciones.

Nos hemos planteado solicitar el permiso para utilizar los caballos de la Guardia Real, porque pensamos que constituyen, en cuanto a manejo y condiciones de alojamiento, el grupo ideal por su homogeneidad, sobre el que realizar el estudio.

En espera de su contestación y agradeciéndole de antemano la ayuda prestada, le saluda atentamente

Fdo.: Gema Silván Granada  
 Directora del Departamento de Fisiología (Fisiología Animal)

*Anexo 1.- Carta informativa para la Guardia Real de Madrid*

**TESIS DOCTORAL: EFECTOS DE LA ACUPUNTURA EN EL S.N.A  
EN EQUINOS.**

DEPARTAMENTO DE FISILOGIA (FISIOLOGÍA ANIMAL). FACULTAD DE  
VETERINARIA.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

DIRECTOR: D. JUAN CARLOS ILLERA DEL PORTAL.

DIRECTORA: DÑA. GEMA SILVAN GRANADO.

AUTORA: ELENA MARTÍNEZ GÓMEZ.

**BASES DEL TRABAJO:**

Trabajar con animales conlleva tener conocimientos sobre etología y comportamiento animal para prever las reacciones de los mismos. Hay equinos que pueden sufrir mayores cambios de comportamiento debido a traumas psicológicos, desordenes neurológicos o cambios hormonales. Los riesgos laborales que sufren los profesionales que trabajan con animales son difícilmente cuantificables ya que no existen demasiados estudios al respecto y menos en España.

Para evitar, en la medida de lo posible, estos riesgos se suele sedar mediante fármacos a los ejemplares para poder trabajar con más seguridad y evitar que el animal se estrese. Pero estos fármacos usados también pueden tener reacciones adversas como ataxia o importante depresión respiratoria.

En este ensayo controlado aleatorizado (ECA), queremos proponer la acupuntura como una opción más a tener en cuenta para la sedación de los caballos.

Creemos que se pueden provocar reacciones similares a la sedación química: reducción de la frecuencia respiratoria, reducción de la frecuencia cardiaca, cambios en la temperatura corporal, variaciones en las hormonas relacionadas con el estrés. Buscamos una activación del Sistema Nervioso Parasimpático.

**MEDICIÓN DE VARIABLES:**

Tras realizar la primera medición de variables en los ejemplares en situación basal realizará la punción de diferentes puntos y repetiremos la medición de variables a los 15 minutos y cada 15 minutos hasta llegar a los 45 minutos.

Retiraremos las agujas y continuaremos controlando los cambios de las variables a los 15 minutos y a los 30 minutos hasta llegar a los 75 minutos cuando se realizará la última medición.

## **REALIZACION DE LA TÉCNICA:**

Antes de la punción es indispensable realizar una correcta desinfección de la piel, para esto usaremos Alcohol reforzado al 96% para uso tópico y piel sana de los Laboratorios Betamadrileño, S.L., empaparemos la zona de la puntura con este desinfectante y frotaremos con una gasa para limpiar el pelo.

Para realizar la punción usaremos una aguja de acupuntura de acero inoxidable y desechable de 1,5 cun o 40 mm sin guía de la marca Ener-qi, después de revisar que no esté torcida, con el cuerpo corroído o con la punta curvada o roma.

El ángulo de la punción depende de las características topográficas del punto elegido y de su estructuras diana.

Existen determinas técnicas de aplicación de la aguja dependiendo de si queremos tonificar el punto o dispersarlo.

Puntos propuestos para punturar:

- Bai- hui: localizado en la línea media dorsal, en el espacio lumbosacro.
- VG16: en la línea media de la depresión suboccipital. Articulación atlantaoccipital.
- V60: entre el cóndilo lateral de la tibia y el calcáneo.

**RECOGIDA DE VARIABLES:**

**1.- SITUACIÓN BASAL:** ejemplar tranquilo en el box.

**1.a.- Medición Variables:**

Frec. Cardíaca	Tensiómetro oscilométrico digital colocado en la Arteria Coccígea media (maslo).
Presión sistólica y Diastólica	Tensiómetro oscilométrico digital colocado en la Arteria Coccígea media (maslo).
Frec. respiratoria	Observación directa en flanco u ollares durante 60 sg.
Temperatura corporal	Termómetro digital en el recto.
Constricción pupilar	Observación directa.
Activación genital	Observación directa.
Activación urinaria	Observación directa.
Glucosa	60-120mg/dl en ayunas 4-7mmol/l en ayunas. Sube después de las comidas. Se considera estrés por encima de 180mg/dl o 10mmol/l Medido con glucómetro, dispositivo de punción, lanceta, tira reactiva .

### **1.b.- Muestra de sangre:**

Muestra de sangre tomada en Vena Yugular externa con palometa o catéter intravenoso.

Se tiene pensado medir las siguientes hormonas:

- Vasopresina
- Hormona liberadora de corticotropina CRH\*
- Hormona Adenocorticotropa ACTH
- B-endorfinas\*
- Cortisol.
- Epinefrina
- Norepinefrina
- Aldosterona.
- Tiroxina.\*
- Hormona de crecimiento.\*
- Citoquinas.\*

\*Pendientes de confirmar que se pueden medir.

### **2.-BOX – PUNCIÓN:**

#### **Medición de variables y toma de sangre:**

- ✓ Punción .
  - A los 15 minutos.
    - A los 30 minutos.
      - A los 45 minutos.
- ✓ Retirada de la aguja.
  - A los 60 minutos.
    - A los 75 minutos.

*Anexo2.- Carta informativa para la Hípica Valdecastre y para la Policía Nacional de Madrid.*



# **Bibliografía**

---



1. Reyes G Ariel E. Evolución Histórica de la Medicina Tradicional China. Comunidad y Salud [Internet]. 2008 Dic [citado 2017 Mar 06] ; 6( 2 ): 42-49. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-32932008000200005&lng=es](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-32932008000200005&lng=es).
2. Sakatani K, KitagawaT, Aoyama N, Sasaki M. Effects of acupuncture on autonomic nervous function and prefrontal cortex activity. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2010;662, 455-460.
3. Jäggin S, Fürst A, Hässig M, Auer J. Kick injuries of veterinarians during examination and treatment of horses: a retrospective study in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2005;147(7):289-95.
4. Ley 10/2013 BOE 177. 2017.
5. Navarrete LE. Estudios de los riesgos químicos, ergonómicos y accidentes laborales en medios veterinarios dedicados al trabajo con animales mayores en el área de Temuco-Chile. Universidad Católica de Temuco, 2004, 44p.
6. Muñiz, M, Moure JD, Mirás A, Rodríguez A. Accidentes graves provocados por caballos. Alertas y pautas de prevención. *Anales de Pediatría*, 2009, 70(5), 434-437.
7. Landercasper J, Coqbill TH, Strutt PJ, Landercasper BO. Trauma and the veterinarian. *Journal of Trauma*, 1988, 28(8), 1255-9.
8. Lucas M.; Day L, Fritschi L. Injuries to Australian veterinarians working with horse. *Veterinary Record.*, 2009, 164, 7, 207-209.
9. García IR. Enfermedades profesional del veterinario. *Mundo Ganadero*, 2006, año 17, 192, 47-62.
10. Donnell NC. Is it psychological, physical, or both?. *Animal Convention of the American Association of Equine*, 2005.
11. Murray R, Dyson S, Tranquille C, Adams V. Association of type of sport and performance level with anatomical site of orthopaedic injury diagnosis. *Equine Veterinary Journal*. 2006;38(S36):411-416.
12. Navarrete LE. Estudios de los riesgos químicos, ergonómicos y accidentes laborales en medios veterinarios dedicados al trabajo con animales mayores en el área de Temuco-Chile. Universidad Católica de Temuco, 2004, 44p.

13. Muñiz M, Moure JD, Mirás A, Rodríguez A. Accidentes graves provocados por caballos. Alertas y pautas de prevención. *Anales de Pediatría*, 2009, 70(5), 434-437.
14. Landercasper J, Coqbill TH, Strutt PJ. Landercasper, B.O. Trauma and the veterinarian. *Journal of Trauma*, 1988, 28(8), 1255-9.
15. Lucas M, Day L, Fritschi L. Injuries to Australian veterinarians working with horse. *Veterinary Record.*, 2009, 164, 7, 207-209 REPE
16. García IR. Enfermedades profesional del veterinario. *Mundo Ganadero*, 2006, año 17, 192, 47-62.
17. Tadich T, Araya O. Conductas no deseadas en equinos. *Archivos de medicina veterinaria*. 2010;42(2).<https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2010000200004>
18. Tula R. Etología equina [Internet]. 2017 [cited 16 January 2017]. Available from: [http://www.produccion-animal.com.ar/etologia\\_y\\_bienestar/etologia\\_en\\_general/08-Etologia\\_Equina.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/etologia_y_bienestar/etologia_en_general/08-Etologia_Equina.pdf)
19. Yllera MM, Camiña M, Cantalapiedra J. Comportamiento y órganos de los sentidos de los animales. *Monografías do Ibader - Serie Pecuaria 2*. Ibader. 2016. Universidade de Santiago de Compostela. Lugo.
20. Donnell NC. Is it psychological, physical, or both?. *Animal Convention of the American Association of Equine*, 2005.
21. Jäggin S, Fürst A, Hässig M, Auer J. Kick injuries of veterinarians during examination and treatment of horses: a retrospective study in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2005;147(7):289-95.
22. König von Borstel U, Euent S, Graf P, König S, Gauly M. Equine behaviour and heart rate in temperament tests with or without rider or handler. *Physiology & Behavior*. 2011;104(3):454-463.
23. Stout T. Modulating reproductive activity in stallions: A review. *Animal Reproduction Science*. 2005;89(1-4):93-103.
24. Bollwein H, Schulze J, Miyamoto A, Sieme H. Testicular Blood Flow and Plasma Concentrations of Testosterone and Total Estrogen in the Stallion after the Administration of Human Chorionic Gonadotropin. *Journal of Reproduction and Development*. 2008;54(5):335-339.
25. Kosiniak-Kamysz K, Bittmar A, Podstawski Z, Gorazd M. Characteristics of the breed structure and semen quality of stallions from national stallion depots. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2005;21(5-6-2):73-75.

26. Price, EO. Male sexual Behaviour. Principles and applications of domestic animal behaviour: an introductory text. Ed. Cabi. 2008;105-125.
27. Saifzadeh S, Hobbenaghi R, Asri-Rezaei I, Shokouhi SJ, Dalir-Naehadeh B, Rohi SM. Evaluation of “section-ligation-release(SLR)” technique devised for castration stallion. *Reproduction Domestic Animals*, 2008, 43(6), 678-84.
28. Duncan IJH. Behavior and behavioral needs. *Poultry Science*. 1998;77, 1766-1772.
29. Mcgreevy P. *Equine behavior: a guide for veterinarians and equine scientists*. Saunders, Elsevier. 2004; 369 p.
30. Marsden, MD. Stereotypic and other behavior problems. *Equine Neurology*, 2008, p. 373-402.
31. Muñoz L, Torres J, Sepúlveda O, Rehhof C, Ortiz R. Frecuencia de comportamientos anormales estereotipados en caballos Chilenos estabulados. *Archivos de medicina veterinaria*. 2009;41(1).
32. Hothersall B, Casey R. Undesired behaviour in horses: A review of their development, prevention, management and association with welfare. *Equine Veterinary Education*. 2011;24(9):479-485.
33. Nicol C, Davidson H, Harris P, Waters A, Wilson A. Study of crib-biting and gastric inflammation and ulceration in young horses. *Veterinary Record*. 2002;151(22):658-662.
34. Ninomiya S. Social leaning and stereotypy in horses. *Behavioural Processes*. 2007;76(1):22-23.
35. Parker M, ES Redhead, D Goodwin, SD McBride.. Impaired instrumental choice in crib biting horses (*Equus caballus*). *Behavioural Brain Research* 2008;191, 137-140.
36. McBride SD, A Hemmings. A neurologic perspective of equine stereotypy. *Journal of Equine Veterinary Science* .2009;29, 10-16.
37. Mills DS, M Riezebos. The role of the image of a conspecific in the regulation of stereotypic head movements in the horse. *Applied Animal Behaviour Science*. 2005; 91, 155-165.
38. Parker M, McBride S, Redhead E, Goodwin D. Differential place and response learning in horses displaying an oral stereotypy. *Behavioural Brain Research*. 2009;200(1):100-105.
39. Ninomiya S, S Sato, K Sugawara. Weaving in stabled horses and its relationship to other behavioural traits. *Applied Animal Behaviour Science* 2007;106, 134-143.

40. McBride SD, A Hemmings. Altered mesoaccumbens and nigro-striatal dopamine physiology is associated with stereotypy development in a non rodent species. *Behavioural Brain Research* .2005;159, 113-118.
41. Barnard, Christopher J. *Animal behaviour: mechanism, development, function and evolution*. Pearson Education, 2004. 167-176.
42. Navarrete D, Hamilton-West C, Stephens N, Weber C, Tadich T. Factores de riesgo para la presentación de conductas no deseadas en equinos de deporte en Chile. *Archivos de medicina veterinaria*. 2015;47(1):77-84.
43. Fureix C, Menguy H, Hausberger M. Partners with bad temper: reject or cure? A study of chronic pain and aggression in horses. *Public Library of Science One*. 2010; 26;5(8):e12434. doi: 10.1371/journal.pone.0012434.
44. Hausberger M, Muller C. A brief note on some possible factors involved in the reactions of horses to humans. *Applied Animal Behaviour Science*. 2002;76(4):339-344.
45. Meral Y, Cakiroğlu D, Sancak AA, Cýfteý G, Karabacak A. Relationships between serum serotonin and serum lipid levels, and aggression in horses. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*. 2007;114(1):30-2.
46. Brosnan R, Steffey E. Sedative effects of propofol in horses. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 2009;36(5):421-425.
47. Matthews N. The case for the use of Acepromazine in male horses. *AAEP Proceedings*, 2009. Vol 55.
48. Sandoval, C. *Síndrome de Horner*. Informe Diplomado Medicina Equina. Santiago, Chile. U. Chile Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 2009. 12 p.
49. Radostits O, Mayhew I, Houston D. *Examen y diagnóstico clínic en veterinaria*. 1st ed. Madrid: Harcourt; 2002;757 p.
50. Rigoglio N, Barreto R, Favaron P, Jacob J, Smith L, Gastal M et al. Central Nervous System and Vertebrae Development in Horses: a Chronological Study with Differential Temporal Expression of Nestin and GFAP. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2016;61(1):61-78. doi: 10.1007/s12031-016-0805-9.
51. Morgan R. *Handbook of small animal practice*. 1st ed. Philadelphia: Saunders; 2008.
52. Tennent-Brown B, Morrice A, Reed S. The Equine Neonatal Central Nervous System. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 2015;31(3):587-600. doi: 10.1016/j.cveq.2015.08.002.

53. De Lahunta A, Glass E, Kent M. *Veterinary neuroanatomy and clinical neurology*. 2nd ed. 1983.
54. Palencia P. *Medicina Interna Equina Neurología Equina; el examen clínico del caballo*. Cantabria. España. *Información veterinaria*. 2007;16-20.
55. Hahn B. Miscellaneous disorders of the equine nervous system: Horner's Syndrome and polyneuritis equi. *Clinical Techniques in Equine Practice* 2006; 5: 43 – 48.
56. Furr M, Reed S. *Equine neurology*. 2nd ed. Blackwell Publishing. 2015.
57. Bassuino D, Konradt G, Cruz R, Silva G, Gomes D, Pavarini S et al. Characterization of spinal cord lesions in cattle and horses with rabies. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 2016;28(4):455-460. doi: 10.1177/1040638716647992.
58. Dörner C. Síndrome Cauda Equina. Informe Diplomado Medicina Equina. Santiago, Chile. *Veterinarias y Pecuarias*. 2009;20 p.
59. Van Biervliet J. An Evidence-Based Approach to Clinical Questions in the Practice of Equine Neurology. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 2007;23(2):317-328.
60. Mastly J. Overview of Neuroanatomy, in *Equine Neurology* (eds M. Furr and S. Reed), Blackwell Publishing .2007;pp. 3 – 31. doi: 10.1002/9780470376461.ch1.
61. Dörner SM C, Godoy P. A. Examen neurológico en el equino de deporte. *Avances en Ciencias Veterinarias*. 2011;26(1-2).
62. Bolat D, Yıldız D, Bahar S, Yürüker S, Kaymaz F, Iğın C et al. A comparative study of oculomotor, trochlear and abducens nerves in Arabian foals. *Biotechnic & Histochemistry*. 2017;92(2):149-156. doi: 10.1080/10520295.2017.1288926
63. Appenzeller O, Oribe E. *The autonomic nervous system. An introduction to basic and clinical concepts*. 5 ed. New York: Elsevier Science. 1997.
64. Goldstein DS. *The autonomic nervous system in health and disease. Neurological Disease and Therapy*; Book 51; 2001.
65. Freire-Maia L, Azevedo AD. The autonomic nervous system is not a purely efferent system. *Med Hypoth* 1990; 32: 91-9. 7.
66. Gabella G. *Structure of the autonomic nervous system*. 1st ed. [Place of publication not identified]: Springer; 2013.
67. Ingall TJ, McLeod JG, O'Brien PC. The effect of ageing on autonomic nervous system function. *Aust N Z J Med*. 1990;20(4):570-7.

68. Aige V. Anatomía del sistema nervioso en el perro y en el gato. Universitat Autònoma de Barcelona. Servei de Publicacions. 2008.
69. Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2012 ;6;9(5):286-94.
70. Furness JB, Callaghan BP, Rivera LR, Cho HJ. The enteric nervous system and gastrointestinal innervation: integrated local and central control. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2014;817:39-71.
71. Lake JJ, Heuckeroth RO. Enteric nervous system development: migration, differentiation and disease. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* . 2013 Jul 1;305(1):1-24.
72. Giancola F, Rambaldi A, Bianco F, Iusco S, Romagnoli N, Tagliavia C et al. Localization of the 5-hydroxytryptamine 4 receptor in equine enteric neurons and extrinsic sensory fibers. *Neurogastroenterology & Motility*. 2017;;e13045. doi: 10.1111/nmo.13045.
73. Romero- Trujillo JO. Sistema nervioso entérico y motilidad gastrointestinal. *Acta Pediatr Mex* 2012;33(4):207-214
74. Bonica JJ. Autonomic innervation of the viscera in relation to nerve block. *Anesthesiology* 1968; 29: 793-9.
75. Silva T. Sistema nervioso autónomo [Internet]. 2017 [cited 28 November 2015]. Available from: [http://www.scartd.org/arxiu/fisio\\_sna05.pdf](http://www.scartd.org/arxiu/fisio_sna05.pdf)
76. von Borell E, Langbein J, Després G, Hansen S, Leterrier C, Marchant-Forde J et al. Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals — A review. *Physiology & Behavior*. 2007;92(3):293-316.
77. Hart K, Kitchings K, Kimura S, Norton N, Myrna K. Measurement of cortisol concentration in the tears of horses and ponies with pituitary pars intermedia dysfunction. *American Journal of Veterinary Research*. 2016;77(11):1236-1244.
78. Kreulen DL. Integration in autonomic ganglia. *Physiologist* 1984; 27: 49-55.
79. Haritou SJA, Zylstra R, Ralli C, Turner S, Tortonese DJ. Seasonal Changes in Circadian Peripheral Plasma Concentrations of Melatonin, Serotonin, Dopamine and Cortisol in Aged Horses with Cushing's Disease under Natural Photoperiod. *Journal of Neuroendocrinology*. 2008;20(8):988-996. doi:10.1111/j.1365-2826.2008.01751.x.

80. Lorenz M, Coates J, Kent M. Handbook of Veterinary Neurology. 1st ed. London: Elsevier Health Sciences; 2010.
81. Moss J, Renz C L. The autonomic nervous system. Ronald D Miller editor. Anesthesia. Filadelfia: Churchill Livingstone; 2000. p. 523-577.
82. Sanchez C. Trastornos del sistema nervioso autónomo. *Medicine* 2003; 8: 5475-5483
83. González-albarrán O, Fraile J, Robles R. Fisiología de las glándulas suprarrenales. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 2000;8(21), p. 1097-1101.
84. Ayala I, Martos N, Silvan G, Gutierrez-Panizo C, Clavel J, Illera J. Cortisol, adrenocorticotrop hormone, serotonin, adrenaline and noradrenaline serum concentrations in relation to disease and stress in the horse. *Research in Veterinary Science*. 2012;93(1):103-107. doi: 10.1016/j.rvsc.2011.05.013
85. Perkins GA, Lamb S, Erb HN, Schanbacher B, Nydam DV, Divers TJ. Plasma adrenocorticotropin (ACTH) concentrations and clinical response in horses treated for equine Cushing's disease with cyproheptadine or pergolide. *Equine Veterinary Journal*. 2002;34(7):679-85.
86. Rendle D, Duz M, Beech J, Parkin T, Durham A. Investigation of Single and Paired Measurements of Adrenocorticotrop Hormone for the Diagnosis of Pituitary Pars Intermedia Dysfunction in Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2014;29(1):355-361.  
doi: 10.1016/j.cveq.2010.12.011
87. Schmidt A, Aurich J, Möstl E, Müller J, Aurich C. Changes in cortisol release and heart rate and heart rate variability during the initial training of 3-year-old sport horses. *Hormone Behaviour*. 2010;58(4):628-36. doi: 10.1016/j.yhbeh.2010.06.011.
88. Sherwood L, Klandorf H, Yancey P. *Animal physiology*. 1st ed. Pacific Grove, Calif.: Brooks/Cole; 2013.
89. Bartolomé E, Cockram M. Potential Effects of Stress on the Performance of Sport Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2016;40:84-93.
90. Schmidt-Nielsen K. *Animal physiology*. 1st ed. Cambridge Cambridge University Press; 2010.
91. Selye H. Stress and disease. *Science* 1955; 122: 625-31.
92. Pacak K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocrine Reviews*. 2001;22:502-48.

93. Liburt N, McKeever K, Malinowski K, Smarsh D, Geor R. Response of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to stimulation tests before and after exercise training in old and young Standardbred mares. *Journal of Animal Science*. 2013;91(11):5208-5219.
94. Duval F, González F, Rabia H. Neurobiología del estrés. *Revista Chilena de neuropsiquiatria*. 2010;48( 4 ): 307-318. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272010000500006>.
95. Tafet G, Bernardini R. Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2003;27(6):893-903.
96. Raekallio M, Taylor P, Bloomfield M. A comparison of methods for evaluation of pain and distress after orthopaedic surgery in horses. *Journal of Veterinary Anaesthesia*. 1997;24(2):17-20.
97. Iceta-Echave, R. “Caracterización del transportador de serotonina humano en células CACO- 2: Estudio de los mecanismos de regulación fisiológica” Tesis de Doctorado, Universidad de Zaragoza. 2008.
98. Hoffman C, McKenzie H, Furr M, Desrochers A. Glucocorticoid Receptor Density and Binding Affinity in Healthy Horses and Horses with Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2015;29(2):626-635.
99. Meyer S, Chrousos G, Gold P. Major depression and the stress system: A life span perspective. *Development and Psychopathology*. 2001;13(3):565-580.
100. Jellyman J, Valenzuela O, Fowden A. Horse species symposium: Glucocorticoid programming of hypothalamic-pituitary-adrenal axis and metabolic function: Animal studies from mouse to horse. *Journal of Animal Science*. 2015;93(7):3245.
101. Fazio E, Medica P, Cravana C, Ferlazzo A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses of horses to therapeutic riding program: Effects of different riders. *Physiology & Behavior*. 2013;118:138-143. doi: 10.1016/j.physbeh.2013.05.009.
102. Ferlazzo, A., Medica, P., Cravana, C., & Fazio, E. Circulating  $\beta$ -endorphin, adrenocorticotropin, and cortisol concentrations of horses before and after competitive show jumping with different fence heights. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2012;. 32(11), 740-746.
103. Lightman SL, Young WS. Influence of steroids on the hypothalamic corticotropin-releasing factor and preproenkephalin mRNA responses to stress. *National Academy of Sciences of the United States of America* .1989 ;86(11):4306-10.

104. Dunn AJ, Berridge CW. Physiological and behavioral responses to corticotropin-releasing factor administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses?. *Brain research reviews*. 1990;15(2):71-100.
105. Ferlazzo A, Bruschetta G, Di Pietro P, Medica P. The influence of age on plasma serotonin levels in Thoroughbred horses. *Livestock Science*. 2012;147(1-3):203-207.
106. Stäubli U, Xu FB. Effects of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonism on hippocampal theta rhythm, memory, and LTP induction in the freely moving rat. *J Neurosci*. 1995;15(3 Pt 2):2445-52.
107. Alberghina D, Amorini AM, Lazzarino G. Modulation of peripheral markers of the serotonergic system in healthy horses. *Research in Veterinary Science*. 2011;90(3):392-5. doi: 10.1016/j.rvsc.2010.06.023.
108. McEwen BS, Wingfield JC. What's in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. *Hormones and behavior*. 2010;57(2):105. doi:10.1016/j.yhbeh.2009.09.011.
109. Rendle D, Litchfield E, Heller J, Hughes K. Investigation of rhythms of secretion and repeatability of plasma adrenocorticotrophic hormone concentrations in healthy horses and horses with pituitary pars intermediadysfunction. *Equine Veterinary Journal*. 2013;46(1):113-117. doi: 10.1111/evj.12114.
110. Retana-Marquez S., Bonilla-Jaime H., Vazquez-Palacios G., Martinez-Garcia R., & Velazquez-Moctezuma J. Changes in masculine sexual behavior, corticosterone and testosterone in response to acute and chronic stress in male rats. *Hormones and Behavior*. 2003; 44(4), 327-337.
111. Uddin M, Aiello AE, Wildman DE, et al. Epigenetic and immune function profiles associated with posttraumatic stress disorder. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(20):9470-9475. doi:10.1073/pnas.0910794107.
112. O'Mahony SM, Hyland NP, Dinan TG, Cryan JF. Maternal separation as a model of brain-gut axis dysfunction. *Psychopharmacology* .2011;214(1):71-88. doi: 10.1007/s00213-010-2010-9
113. Esch T, Stefano GB, Fricchione GL, Benson H. Stress in cardiovascular diseases. *Medical Science Monitor*. 2002;8(5)
114. Esch T, Stefano GB, Fricchione GL, Benson H. The role of stress in neurodegenerative diseases and mental disorders. *Neuro Endocrinol Lett*. 2002;23(3):199-208.

115. Koolhaas J, Van Reenen C. Animal behavior and well-being symposium: Interaction between coping style/personality, stress, and welfare: Relevance for domestic farm animals. *Journal of Animal Science*. 2016;94(6):2284.doi: 10.2527/jas.2015-0125.
116. Lao-Tse . *Dào Dé Jīng*. 604 a.C.
117. Berríos P. Historia de la Medicina Veterinaria. Sus orígenes. Mepavet [Internet].2006. Disponible en:  
<http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET2%202006/html/Mepavet2006-4.htm>
118. Barriga O. Veterinary medicine: an illustrated history. Por Robert H. Dunlop y David J. Williams. *Avances en Ciencias Veterinarias*. 2010;12(1).
119. Castañeda Paniagua J. Breve historia de la medicina veterinaria. 1st ed. Morelia, Mich.: [s.n.]; 2002.
120. Sumano López H, López Buendía G. *Acupuntura veterinaria*. Mexico. Interamericana McGraw-Hill; 1990.
121. Schoen AM . Veterinary acupuncture: Ancient art to modern medicine. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2000;20(11):697.
122. Thoresen A. *Acupuntura veterinaria*. 1st ed. Barcelona: Multimédica Ediciones Veterinarias; 2006.
123. Real Decreto 1591/2010, de 26 de noviembre, por el que se aprueba la
124. Clasificación Nacional de Ocupaciones 2011
125. Huainanzi, Cap. 3, traducción al inglés por David Mayor, citado en E. Rochat de la Vallée, *Yin Yang in classical texts*, traducido al español por C.S.
126. Puertas D., Snijders A. *Acupuntura en Veterinaria*. Ed. Holosfera.2009.
127. Robert S. *Acupuntura Tradicional China en el caballo*. Ed. Lettera. 2005.
128. Collazo E. Fundamentos actuales de la terapia acupuntural. *Rev. Soc. Esp. Dolor* [Internet]. 2012 Dic [citado 2017 Abr 05] ; 19( 6 ): 325-331. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1134-80462012000600007&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1134-80462012000600007&lng=es).
129. Mayor D. Dao of Chinese medicine: understanding an ancient healing art. *Acupuncture in Medicine*. 2007;25(1-2):54-57.
130. Bases Científicas de la Acupuntura [Internet]. *Equimagenes.com*. 2017 [cited 16 January 2017]. Available from: <http://www.equimagenes.com/index.php/bases-cientificas-acupuntura>

131. MacPherson H, Hammerschlag R. Acupuncture and the Emerging Evidence Base: Contrived Controversy and Rational Debate. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*. 2012;5(4):141-147.
132. Becker R, Selden G. *The body electric*. 1st ed. New York: Morrow; 1998.
133. [Internet]. 2017 [cited 11 September 2016]. Available from: 17.  
<http://www.centrodeltao.com/a2-LIBROS-ESIA/g007e-Evidencia-Cientifica-MERIDIANOS-y-PUNTOS-ENERGETICOS.pdf>
134. Darras, J. C., De Vernejoul, P., & Albarede, P. Nuclear medicine and acupuncture: a study on the migration of radioactive tracers after injection at acupoints. *American journal of acupuncture*. 1992; 20(3), 245-256.
135. Kovacs FM, García A, Mufraggi N, García F, Pavía D, Prandi D, Gotzens V, Giralt I, Piera C, Setoain J. Migration pathways of hypodermically injected technetium-99m in dog. *Eur Radiol* 2000;10:1019-1025.
136. Kovacs FM, Gotzens V, García A, García F, Mufraggi N, Prandi D. Acupuncture and radioactive pathways of hypodermically injected technetium-99m. *J Nucl Med* 1992;33(11):2060.
137. Langevin HM, Bouffard NA, Badger GJ, et al. Subcutaneous tissue fibroblast cytoskeletal remodeling induced by acupuncture: Evidence for a mechanotransduction-based mechanism. *J Cell Physiol*. 2006;207:767–774
138. Helene M. Langevin, Elisa E. Konofagou, Gary J. Badger, David L. Churchill, James R. Fox, Jonathan Ophir, Brian S. Garra. Tissue displacements during acupuncture using ultrasound elastography techniques. *Ultrasound Med Biol*. 2004; 30(9): 1173–1183. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2004.07.010.
139. Langevin, H. M. and Yandow, J. A. Relationship of acupuncture points and meridians to connective tissue planes. *Anat. Rec*. 2002; 269: 257–265.  
doi:10.1002/ar.10185
140. Langevin HM, Storch KN, Snapp RR, et al. Tissue Stretch Induces Nuclear Remodeling in Connective Tissue Fibroblasts. *Histochemistry and cell biology*. 2010;133(4):405-415. doi:10.1007/s00418-010-0680-3.
141. Helene M. Langevin, Nicole A. Bouffard, Gary J. Badger, James C. Iatridis, Alan K. Howe. Dynamic fibroblast cytoskeletal response to subcutaneous tissue stretch *ex vivo* and *in vivo*. *American Journal of Physiology - Cell Physiology* Mar 2005, 288 (3) C747-C756; DOI: 10.1152/ajpcell.00420.2004

142. H. M. Langevin, D. L. Churchill, M. J. Cipolla. Mechanical signaling through connective tissue: a mechanism for the therapeutic effect of acupuncture. *Faseb j.* 2001; 15(12): 2275–2282. doi: 10.1096/fj.01-0015hyp
143. Shmalberg J, Xie H. Acupuncture and Chinese herbal medicine for treating horses. *Compend Contin Educ Vet.* 2011 May;33(5):E1-11. Review. PubMed PMID: 23705162
144. le Jeune S, Henneman K, May K. Acupuncture and Equine Rehabilitation. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice.* 2016;32(1):73-85. doi: 10.1016/j.cveq.2015.12.004.
145. Teichmann B. Horse receiving acupuncture. *Acupunct Med.* 2010 Sep;28(3):110. doi: 10.1136/aim.2010.003103.
146. Ramey DW. Regulatory aspects of complementary and alternative veterinary medicine. *J Am Vet Med Assoc.* 2003 Jun 15;222(12):1679-82
147. Ernst E. Acupuncture, fools, and horses. *J Pain Symptom Manage.* 1997 Dec;14(6):325-6
148. Fleming P. Nontraditional approaches to pain management. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2002 Apr;18(1):83-105, vii. Review
149. Habacher G, Pittler MH, Ernst E. Effectiveness of acupuncture in veterinary medicine: systematic review. *J Vet Intern Med.* 2006 May-Jun;20(3):480-8. Review.
150. Clark DR. Questions effectiveness of acupuncture. *J Am Vet Med Assoc.* 1987 Jul 15;191(2):165.
151. Ramey DW. Dr. Ramey remains unconvinced about acupuncture. *J Am Vet Med Assoc.* 2005 Oct 1;227(7):1064.
152. Still J. Acupuncture Treatment of Pain along the Gall Bladder Meridian in 15 Horses. *J Acupunct Meridian Stud.* 2015 Oct;8(5):259-63. doi: 10.1016/j.jams.2015.06.009.
153. Still J. Pain along the gall bladder meridian in 100 horses. *J Acupunct Meridian Stud.* 2013 Jun;6(3):169-72. doi: 10.1016/j.jams.2013.03.001.
154. Bossut DF, Page EH, Stromberg MW. Production of cutaneous analgesia by electroacupuncture in horses: variations dependent on sex of subject and locus of stimulation. *Am J Vet Res.* 1984 Apr;45(4):620-5.
155. Klide AM. Acupuncture analgesia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1992 Mar;22(2):374-9. Review.
156. Dill SG. Acupuncture for gastrointestinal disorders. *Probl Vet Med.* 1992 Mar;4(1):144-54. Review.

157. Merritt AM, Xie H, Lester GD, Burrow JA, Lorenzo-Figueras M, Mahfoud Z. Evaluation of a method to experimentally induce colic in horses and the effects of acupuncture applied at the Guan-yuan-shu (similar to BL-21) acupoint. *Am J Vet Res.* 2002 Jul;63(7):1006-11.
158. Sumano López H, Hoyas Sepúlveda ML, Brumbaugh GW. Pharmacologic and alternative therapies for the horse with chronic laminitis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1999 Aug;15(2):495-516, viii. Review.
159. Walsh DM. Laminitis treatment: a personal memoir. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2010 Apr;26(1):21-8. doi: 10.1016/j.cveq.2009.12.010.
160. Steiss JE, White NA, Bowen JM. Electroacupuncture in the treatment of chronic lameness in horses and ponies: a controlled clinical trial. *Can J Vet Res.* 1989 Apr;53(2):239-43
161. Landholm JE, Mills LL. Use of acupuncture in treatment of laminitis in a horse. *Vet Med Small Anim Clin.* 1981 Mar;76(3):405-7.
162. Martin BB Jr, Klide AM. Use of acupuncture for the treatment of chronic back pain in horses: stimulation of acupuncture points with saline solution injections. *J Am Vet Med Assoc.* 1987 May 1;190(9):1177-80.
163. Klide AM, Martin BB Jr. Methods of stimulating acupuncture points for treatment of chronic back pain in horses. *J Am Vet Med Assoc.* 1989 Nov 15;195(10):1375-9
164. Klide AM. Acupuncture for treatment of chronic back pain in the horse. *Acupunct Electrother Res.* 1984;9(1):57-70.
165. Sheta E, Ragab S, Farghali H, EL-Sherif A. Successful Practice of Electroacupuncture Analgesia in Equine Surgery. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies.* 2015;8(1):30-39.
166. Boldt E Jr. Use of complementary veterinary medicine in the geriatric horse. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2002 Dec;18(3):631-6, ix. Review.
167. Schofield WA. Use of acupuncture in equine reproduction. *Theriogenology.* 2008 Aug;70(3):430-4. doi: 10.1016/j.theriogenology.2008.05.001.
168. Lankenau C. The effects of a single acupuncture treatment in horses with severe recurrent airway obstruction. *Equine Vet J.* 2006 Mar;38(2):109.
169. Dunkel B, Pfau T, Fiske-Jackson A, Veres-Nyeki K, Fairhurst H, Jackson K et al. A pilot study of the effects of acupuncture treatment on objective and subjective gait parameters in horses. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia.* 2017.

170. Angeli AL, Joaquim JGF, Gamma ED, Luna SPL. Outcome of 119 dogs and cats treated at the acupuncture unit of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo State, Botucatu city, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*.2005; 42(1):68-74.
171. Luna SPL, Angeli AL, Ferreira CL, Lettry V, Scognamillo-Szabó M. Comparison of Pharmacopuncture, Aquapuncture and Acepromazine for Sedation of Horses. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*. 2008;5(3):267-272. doi:10.1093/ecam/nel096.
172. Angeli A, Luna S, Garotti J. Aquapuntura no tratamento das síndromes equinas: há Efeito sobre os valores hematológicos e de cortisol? [Internet]. *Revistas.bvs-vet.org.br*. 2017 [cited 16 April 2017]. Available from: <http://revistas.bvs-vet.org.br/ars/article/view/11103/11834>
173. Casasola M. *Acupuntura en animales*. 1st ed. Madrid: Mandala Ediciones; 1999, págs. 42-44. Available from:<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4983154.pdf>
174. Still J. *Acupuncture for surgical analgesia*. Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association Mexico City, Mexico. 2005.
175. Are Simeon Thoresen. *Acupuntura veterinaria y terapias naturales*. Ed. Multimedia Ediciones Veterinarias.2006. ISBN: 84-96344-13-4 REPE
176. CHAN W, CHEN K, LIU H, WU L, LIN J. Acupuncture for General Veterinary Practice. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2001;63(10):1057-1062.
177. De Ponnat, V. *Contribution a l'étude de l'analgésie par acupuncture dans les pathologies locomotrices du cheval*. Université Paul-Sabatier de Toulouse, 2002, 70p.
178. Medina C. *Acupuncture Analgesia*. Southern European Veterinary Conference and Congreso Nacional AVEPA. Barcelona. 2009.
179. KIMURA Y, HARA S. The Effect of Electro-Acupuncture Stimulation on Rhythm of Autonomic Nervous System in Dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2008;70(4):349-352. BOE núm. 252 de 21/10/2005, pag. 34367-34391.
180. Carballo F. *Acupuntura china*. 1ªed. Editorial Kier. 2006.
181. [Internet]. *Agrytec.com*. 2017 [cited 6 February 2016]. Available from: [http://www.agrytec.com/pecuario/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2344:extraccion-de-sangre-en-caballos&catid=41:noticias&Itemid=41](http://www.agrytec.com/pecuario/index.php?option=com_content&view=article&id=2344:extraccion-de-sangre-en-caballos&catid=41:noticias&Itemid=41)
182. *Clinical Validation* [Internet]. Omron Healthcare. 2017 [cited 16 May 2015]. Available from: <https://omronhealthcare.com/service-and-support/clinical-validation>

183. Topouchian J, El Assaad M, Orobinskaia L, El Feghali R, Asmar R. Validation of two automatic devices for self-measurement of blood pressure according to the International Protocol of the European Society of Hypertension: the Omron M6 (HEM-7001-E) and the Omron R7 (HEM 637-IT). *Blood Pressure Monitoring*. 2006;11(3):165-171.
184. Topouchian, J., Agnoletti, D., Blacher1, J., Youssef, A., Chahine, M. N., Ibanez, I., Asmar, R. (2014). Validation of four devices: Omron M6 Comfort, Omron HEM-7420, Withings BP-800, and Polygreen KP-7670 for home blood pressure measurement according to the European Society of Hypertension International Protocol. *Vascular Health and Risk Management*, 10, 33–44.  
<http://doi.org/10.2147/VHRM.S53968>
185. Chahine, Topouchian J, Blacher J, Assemani N, Asmar R, Ibanez I et al. Validation of four devices: Omron M6 Comfort, Omron HEM-7420, Withings BP-800, and Polygreen KP-7670 for home blood pressure measurement according to the European Society of Hypertension International Protocol. *Vascular Health and Risk Management*. 2014:33.
186. Pidal G, Perez Valega E, Lightowler C. Evaluación no invasiva de la tensión arterial en el caballo por la técnica oscilométrica [Internet]. 2016 [cited 28 December 2016]. Available from: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2001/4-Veterinarias/V-009.pdf>
187. Glerup K, Forkman B, Lindegaard C, Andersen P. An equine pain face. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 2015;42(1):103-114.  
<http://doi.org/10.1111/vaa.12212>
188. Beikes HR.. Validation of a Composite Pain Scale for Use with Horses Experiencing Acute Colic Pain. Tesis de Maestría. 2013.
189. Munro CJ, Lasley BL. Non-radiometric methods for immunoassay of steroid hormones. *Progress in Clinical and Biological Research journal*. 1988;285:289-329.
190. Kawulich B. Título La observación participante como método de recolección de datos Fuente. 2005, 6(2): 1-32
191. Navarro X. Physiology of the autonomic nervous system. *Revista de Neurología*. 2002; 35(6):553-62.

192. Cannon WB. Stresses and strains of homeostasis. *American Journal of Medical Science*, 1935;189:1
193. Seyle H. The evolution of the stress concept. *American Scientist*. 1973; 61:692-9.
194. Fazio E, Medica P, Cravana C, Ferlazzo A. Comparative Exploration of the  $\beta$ -endorphin, Adrenocorticotrophic Hormone, and Cortisol Patterns' Response to Simulated and Conventional Transportations of Stallions (*Equus caballus*). *Journal of Equine Veterinary Science*. 2016;44:74-81.
195. Santos Godoi T, Villas-Boas J, Almeida N, Trigo P, de Almeida F, de Medeiros M. Pharmacopuncture Versus Acepromazine in Stress Responses of Horses During Road Transport. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2014;34(2):294-301. doi.org/10.1016/j.jevs.2013.06.008
196. Rizzo M, Arfuso F, Giannetto C, Giudice E, Longo F, Di Pietro S et al. Cortisol levels and leukocyte population values in transported and exercised horses after acupuncture needle stimulation. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*. 2017;18:56-61.
197. Rizzo M, Arfuso F, Giannetto C, Giudice E, Longo F, Bruschetta D et al. Acupuncture Needle Stimulation on Some Physiological Parameters After Road Transport and Physical Exercise in Horse. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2017;48:23-30.
198. Kim H, Park HJ, Han SM, Lee HJ, Kim KS, et al. The effects of acupuncture stimulation at Pc6(Neiguan) on chronic mild stress-induced biochemical and behavioral responses. *Neurosci Lett* 2009;460:56-60.
199. Shmalberg J, Xie H. The Clinical Application of Equine Acupuncture. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2009;29(8):645-652.
200. Still J. Acupuncture for surgical analgesia. *WSAVA Proceedings* 2005.
201. Micera E, Albrizio M, Surdo N, Moramarco A, Zarrilli A. Stress-related hormones in horses before and after stunning by captive bolt gun. *Meat Science*. 2010;84(4):634-637.
202. Villas-Boas JD, Dias DPM, Trigo PI, Almeida NA dos S, de Almeida FQ, de Medeiros MA. Acupuncture Affects Autonomic and Endocrine but Not Behavioural Responses Induced by Startle in Horses. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2015;2015:219579. doi:10.1155/2015/219579.

203. Guedes A. Pain Management in Horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 2017;33(1):181-211. doi: 10.1016/j.cveq.2016.11.006
204. le Jeune, Sarah S.; Williams, Crystal A.; Pypendop, Bruno H.; Ohmura, Hajime; Jones, James H. Does Acupuncture Acutely Affect Heart Rate Variability in Horses? *Journal of Equine Veterinary Science*, 2014; 34(9) :1084-1090.
205. Birt M, Guay K, Treiber K, Ramirez H, Snyder D. The Influence of a Soft Touch Therapy Flowtrition on Heart Rate, Surface Temperature, and Behavior in Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2015;35(8):636-644.
206. O'Connor C, Bayvel A. Challenges to implementing animal welfare standards in New Zealand. *Animal Welfare*. 2012;21(3):397-401.
207. Stafford KJ, Mellor DJ. The implementation of animal welfare standards by Member Countries of the World Organisation for Animal Health (OIE): analysis of an OIE questionnaire. *Rev Sci Tech*. 2009 Dec;28(3):1143-64.
208. Rathgeber, RA. Use of acupuncture in equine reproduction. *AAEP Proceedings*. 2011. Vol 57: 138-140.
209. Rivero Pérez Gudelia, Galán Díaz Isabel, Díaz Falcón Nilson, Lambert Fernández Ofelia. Analgesia acupuntural y bloqueos terapéuticos en pacientes con lumbociatalgia: Labor de enfermería. *Rev Cubana Enfermer [Internet]*. 2000 Ago [citado 2017 Abr 14] ; 16( 2 ): 111-116. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03192000000200009&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03192000000200009&lng=es).
210. Litscher G, Rachbauer D, Ropele S, Wang L, Schikora D, Fazekas F et al. Acupuncture using laser needles modulates brain function: first evidence from functional transcranial Doppler sonography and functional magnetic resonance imaging. *Lasers in Medical Science*. 2004;19(1).
211. Byeon HS, et al. Effects of GV20 acupuncture on cerebral blood flow velocity of middle cerebral artery and anterior cerebral artery territories, and CO2 reactivity during hipocapnia in normal subjects. *J Altern Complement Med* 2011;17(3):219-4.
212. Still J. *Acupuncture in Critical Care Medicine and Anesthesiology*. NAVC Proceedings 2007.
213. Zhang D, Sun L. Effects of acupuncture of “Baihui”(GV20) and “Fengfu”(GV16) on apoptosis in cognitive Dysfunction rats. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*. 2007.

214. Duck-Hwan K, et al. Acupuncture treatment of torticollis in a foal. *Korean Journal of Veterinary Research* .2006; 46(1) : 43-46
215. Tangjitjaroen W, Shmalberg J, Colahan P, Xie H. Equine Acupuncture Research: An Update. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2009;29(9):698-709.
216. Paley CA, Johnson MI. Investigation into the effects of using two or four acupuncture needles with bidirectional rotation on experimentally-induced contact heat pain in healthy subjects *Acupuncture in Medicine* 2015;33:23-29.
217. Helene M. Langevin, Nicole A. Bouffard, David L. Churchill, and Gary J. Badger. Connective Tissue Fibroblast Response to Acupuncture: Dose-Dependent Effect of Bidirectional Needle Rotation. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 2007; 13(3): 355-360. doi:10.1089/acm.2007.6351.
218. Kim DH, Cho SH, Song KH, Lee SE, Lee SH, Kwon GO, Kim IB, Kim YC, Cho JH, Kwon YY, Kim JW. Electroacupuncture analgesia for surgery in cattle. *Am J Chin Med*. 2004;32(1):131-40.
219. Robinson N. Making Sense of the Metaphor: How Acupuncture Works Neurophysiologically. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2009;29(8):642-644.
220. Li Q-Q, Shi G-X, Xu Q, Wang J, Liu C-Z, Wang L-P. Acupuncture Effect and Central Autonomic Regulation. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:267959. doi:10.1155/2013/267959.
221. Donaldson M, McDonnell S, Schanbacher B, Lamb S, McFarlane D, Beech J. Variation in Plasma Adrenocorticotrophic Hormone Concentration and Dexamethasone Suppression Test Results with Season, Age, and Sex in Healthy Ponies and Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2005;19(2):217-222.
222. Ishizaka S, Aurich J, Ille N, Aurich C, Nagel C, Acute physiological stress response of horses to different potential short-term stressors, *Journal of Equine Veterinary Science* .2017.doi: 10.1016/j.jevs.2017.02.013
223. Muir WW. Pain: mechanisms and management in horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 2010;26(3):467-80. doi: 10.1016/j.cveq.2010.07.008.
224. Sinclair M, Keeley T, Lefebvre AC, Phillips CJ. Behavioral and Physiological Responses of Calves to Marshalling and Roping in a Simulated Rodeo Event. *Animals (Basel)*. 2016 ;28;6(5). pii: E30. doi: 10.3390/ani6050030.

225. Nagata S, Takeda F, Kurosawa M, Mima K, Hiraga A, Kai M, Taya K. Plasma adrenocorticotropin, cortisol and catecholamines response to various exercises. *Equine Vet J Suppl.* 1999 ;(30):570-4.
226. Alvarez DL, Farbiarz J, Bermúdez V, Campo F, Castro JA, Ospina C et al.,. Modulación del sistema nervioso autónomo sobre la variabilidad de la frecuencia respiratoria. Una visión desde la teoría del caos y los fractales. 2000. *Iatreia Vol* 13(2).
227. Skarda RT, Muir WW 3rd. Comparison of electroacupuncture and butorphanol on respiratory and cardiovascular effects and rectal pain threshold after controlled rectal distention in mares. *Am J Vet Res.* 2003;64(2):137-44.
228. Skarda RT, Tejwani GA, Muir WW 3rd. Cutaneous analgesia, hemodynamic and respiratory effects, and beta-endorphin concentration in spinal fluid and plasma of horses after acupuncture and electroacupuncture. *American Journal of Veterinary Research.* 2002 Oct;63(10):1435-42.
229. Wang J.-Y., Li H., Ma C.-M., Wang J.-L., Lai X.-S., Zhou S.-F. MicroRNA profiling response to acupuncture therapy in spontaneously hypertensive rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2015;2015:9. doi: 10.1155/2015/204367.204367.
230. Yin C, Seo B, Park H, Cho M, Jung W, Choue R et al. Acupuncture, a promising adjunctive therapy for essential hypertension: a double-blind, randomized, controlled trial. *Neurological Research.* 2007;29(sup1):98-103. doi: 10.1179/016164107x172220.
231. Kalish L. A., Buczynski B., Connell P., et al. Stop Hypertension with the Acupuncture Research Program (SHARP): clinical trial design and screening results. *Controlled Clinical Trials.* 2004;25(1):76–103. doi: 10.1016/j.cct.2003.08.006.
232. Hsu CC, Weng CS, Liu TS, Tsai YS, Chang YH. Effects of electrical acupuncture on acupoint BL15 evaluated in terms of heart rate variability, pulse rate variability and skin conductance response. *The American Journal of Chinese Medicine.* 2006;34(1):23–36
233. Zhou JY, Zhang XY, Yu ML, Lu SF, Chen X. Effect of Transcutaneous Acupoint Electrostimulation on Serum Sex Hormone Levels and Expression of Ovarian Steroid Hormone Metabolic Enzymes in Polycystic Ovary Syndrome Rats. *Zhen Ci Yan Jiu.* 2016;41(1):11-7.

234. Zheng YH, Ding T, Ye DF, Liu H, Lai MH, Ma HX. Effect of low-frequency electroacupuncture intervention on oxidative stress and glucose metabolism in rats with polycystic ovary syndrome. *Zhen Ci Yan Jiu*. 2015;40(2):125-30.
235. Fornes R, Hu M, Maliqueo M, Kokosar M, Benrick A, Carr D, Billig H, Jansson T, Manni L, Stener-Victorin E. Maternal testosterone and placental function: Effect of electroacupuncture on placental expression of angiogenic markers and fetal growth. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2016 ;15;433:1-11.  
doi: 10.1016/j.mce.2016.05.014.
236. Hu M, Zhang Y, Ma H, Ng EH, Wu XK. Eastern medicine approaches to male infertility. *Semin Reprod Med*. 2013;31(4):301-10. doi: 10.1055/s-0033-1345589.
237. Nie GJ, Goodin AN, Braden TD, Wenzel JG. Luteal and clinical response following administration of dinoprost tromethamine or cloprostenol at standard intramuscular sites or at the lumbosacral acupuncture point in mares. *American Journal of Veterinary Research*.2001;62(8):1285-9.

