

INFORMACIÓN GENERAL DE LA INVESTIGACIÓN:

Título:

Efecto del ejercicio físico en células Natural Killer en mujeres sanas y con cáncer de mama

Fecha: 12 de marzo del 2021

Nombre Investigador/a Principal:

Estefania Quintana Mendias

Título profesional: Maestra en Ciencias del Deporte

Institución Académica: Universidad Autónoma de Chihuahua

Correo: esquintana@uach.mx

Teléfono: 6143667981

Nombre Coinvestigador(es/as):

Gerardo Pável Espino Solis

Título profesional:

Doctor en Ciencias Bioquímicas

Institución Académica:

Universidad Autónoma de Chihuahua

Correo: gespinos@uach.mx

Teléfono: 6144618314

Línea de investigación del grupo a la que responde:

Inmunología Molecular

Nombre Coinvestigador(es/as):

Judith Margarita Rodríguez Villalobos

Título profesional:

Doctor en Ciencias de la Cultura Física

Institución Académica:

Universidad Autónoma de Chihuahua

Correo: jurodrig@uach.mx

Teléfono: 6142252808

Línea de investigación del grupo a la que responde:

Factores psicosociales, actividad física y calidad de vida

Descriptor / Palabras claves (Máximo 3-6 palabras clave no incluidas en el título): Actividad física, sistema inmunológico, tratamiento oncológico integral.

Abstracto

Efecto del ejercicio físico en células Natural Killer en mujeres sanas y con cáncer de mama

Las células Natural Killer (NK) son las células del sistema inmunológico más sensibles al efecto del ejercicio físico, logrando incrementarse en cuestión de minutos después de haber iniciado el esfuerzo físico. Estas células son la primera línea de defensa contra células tumorales, razón por la que están siendo estudiadas para utilizarlas en protocolos de inmunoterapia contra el cáncer, por lo que el objetivo de esta investigación es evaluar el efecto agudo del ejercicio físico sobre células NK en mujeres sanas y con cáncer de mama durante su quimioterapia. Como resultados preliminares, se encontró un aumento en el porcentaje de estas células en las participantes sanas y en una paciente evaluada hasta el momento, lo cual se puede traducir en un aumento en la inmunovigilancia y en la inmunogenicidad de células NK contra células tumorales mediada por el efecto del ejercicio.

Resumen

Introducción: Las células asesinas naturales, también conocidas como Natural Killer (NK), son las células más sensibles al efecto del ejercicio, logrando incrementarse en cuestión de minutos después de haber iniciado el esfuerzo físico. Estas células, tienen como principal función eliminar células transformadas o infectadas al primer contacto, participando directamente en el proceso de prevención o tratamiento del cáncer de mama. **Objetivo:** Evaluar el efecto agudo del ejercicio físico sobre células NK en mujeres sanas y con cáncer de mama durante su tratamiento de quimioterapia. **Metodología:** se aplicó a las participantes una carga única de 30 minutos de ejercicio a intensidad moderada sobre banda sinfín y se les tomó una muestra de sangre antes e inmediatamente después de terminada la sesión para el análisis de las células NK por medio de citometría de flujo con el uso de los anticuerpos CD3, CD16, CD56, NKG2A y NKG2D. **Resultados:** Se encontró un incremento estadísticamente significativo en el porcentaje de células NK totales después del ejercicio en el grupo de participantes sanas. De igual manera se encontró un aumento en la población CD56^{dim}CD16^{brigh} caracterizada por ser altamente citotóxica y un decremento en la población CD56^{brigh}CD16 con funciones principalmente secretoras de citocinas. Hasta el momento solo se reportan resultados de una paciente en la cual se observó una tendencia similar a la encontrada en las participantes sanas. **Conclusiones:** Si se logran estos resultados en pacientes con cáncer de mama aún bajo los efectos del tratamiento de quimioterapia se podría establecer al ejercicio físico como un pilar fundamental en pacientes oncológicos, no solo por sus beneficios obtenidos a nivel físico y psicológico sino también por sus efectos a nivel del micro entorno tumoral donde contribuiría a que las células cancerosas no escapen del reconocimiento inmunológico al movilizar

células NK con capacidad altamente citotóxica logrando aumentar la vigilancia del sistema inmune contra estas células tumorales.

Introducción

El ejercicio físico juega un rol importante en la prevención y tratamiento de enfermedades crónicas ya que participa en la regulación de diversos mecanismos biológicos que intervienen directamente en los procesos fisiológicos (World Health Organization, 2010).

Dentro de estos procesos biológicos se encuentra el sistema inmunológico, el cual está involucrado en la vigilancia contra el desarrollo de la carcinogénesis y muestra una respuesta inmediata al ejercicio físico. En especial, se ha demostrado que las células Natural Killer (NK), también llamadas células asesinas naturales, presentan un aumento en sangre periférica, en número y en su actividad citotóxica, después de minutos de haber iniciado un esfuerzo físico (Koelwyn, Quail, Zhang, White, & Jones, 2017; Pedersen et al., 2016). Estas células del sistema inmune, son parte de la primera línea de defensa contra células tumorales, provocando su muerte y desencadenando la inmunidad adaptativa, razón por la cual son foco de atención como una terapia alternativa o complementaria para pacientes con cáncer de mama (CM), enfermedad que se ha tornado un problema de Salud Pública a nivel mundial (Kindt, Goldsby, & Osborne, 2007; Paul & Lal, 2017).

Entre los mecanismos que participan en el aumento de las NK por efecto del ejercicio físico, participan ciertas citocinas secretadas en el músculo durante la contracción, como es el caso de la interleucina 15 (IL-15) que estimula la proliferación y maduración de estas células; el aumento de catecolaminas y la perfusión e infiltración aumentada hacia tejidos transformados, pueden explicar el efecto agudo y crónico del ejercicio (Idorn & Hojman, 2016).

A pesar de las evidencias encontradas, aun no es claro el tipo de ejercicio físico o la dosificación adecuada para lograr potencializar la función de las células NK para la prevención y tratamiento de enfermedades. Es por eso que, el objetivo de la presente revisión sistemática, fue analizar el efecto de diferentes intervenciones con ejercicio físico, sobre la respuesta de células NK en mujeres sanas y con CM.

Revisión de la literatura

En México, el cáncer de mama es la primera causa de muerte por cáncer en mujeres de 20 años o más, siendo la región norte del país donde se encuentran las tasas más altas de mortalidad. El estado de Chihuahua se encuentra entre las doce entidades, que de manera sostenida, presentaron las tasas más altas a lo largo de doce años y el municipio de Chihuahua dentro de los 120 municipios con más altas tasas de morbimortalidad (Abreu & Beltrán, 2015; Castrezana-Campos, 2017; INEGI,

2015; Manzanares, 2017; Mohar et al., 2015; Morales-Flores, Trejo-Tellez, & Ruiz-Vera, 2017; Rizo, González, Sánchez, & Murguía, 2015).

Uno de los mecanismos biológicos más estudiados en oncología es la relación entre la respuesta del sistema inmunológico y el cáncer. A pesar de ser uno de los parámetros más monitoreados durante el tratamiento oncológico del paciente, generalmente este análisis solo evalúa las células del sistema inmune de manera global, dejando fuera de observación a otras células más específicas que juegan un papel fundamental contra el proceso de carcinogénesis, como es el caso de las células NK que tienen como función principal matar a las células tumorales (Idorn & Hojman, 2016; Paul & Lal, 2017).

Cada vez es más la evidencia científica que demuestra la necesidad de incluir al ejercicio físico como parte del tratamiento de pacientes con cáncer ya que entre otros beneficios, impacta directamente sobre las células NK generando un aumento en sangre periférica y aumentando su inmunogenicidad (Cherwin & Perkhounkova, 2017; Jeong Kim, Shin, & Hwa Suk, 2015; Ramírez, Acevedo, Herrera, Ibáñez, & Sánchez, 2017), sin embargo, aproximadamente del 60 % al 80 % de las pacientes con este padecimiento no cumplen con los lineamientos mínimos recomendados de activación física (Arango Prado & Rodríguez-Padilla, 2016; Koelwyn et al., 2017; Schmidt, Hermes, & Weisser, 2017; Uclés Villalobos & Espinoza Reyes, 2017).

Las limitaciones en la atención integral de las pacientes con cáncer de mama donde se incluya al ejercicio pueden ser atribuidas a la falta de información científica suficiente que demuestre los beneficios generados no solo a nivel funcional sino a nivel biológico donde se demuestre su impacto y logre posicionarse entre las estrategias prioritarias de un tratamiento oncológico completo (Ramírez et al., 2017; Tsiouris et al., 2018).

Justificación

En los últimos años, el cáncer de mama en México cumple con las principales características reconocidas por la Organización Mundial de la Salud y otras instituciones internacionales para ser consideradas como problema de salud pública ya que constituyen una causa importante de morbilidad y mortalidad además de producir un elevado impacto económico por años de vida saludable perdidos lo que también lo convierte en un serio desafío financiero para el sistema de salud (Knaul, 2015; Knaul et al., 2009; Mohar et al., 2015).

Por esta razón son reconocibles y valiosos todos los esfuerzos que se inviertan para su adecuada atención, como se ve reflejado en el Programa de Acción Específico sobre Prevención y Control del Cáncer de la Mujer 2013-2018, el cual menciona entre sus

metas la implementación de estrategias, programas, proyectos y acciones basados en evidencia científica que conlleven a esclarecer mecanismos que favorezcan la prevención y tratamiento del cáncer de mama. Es aquí donde cobra relevancia el trabajo colaborativo multidisciplinario que permita encontrar una estrategia integral adecuada para las pacientes con cáncer de mama (Manzanares, 2017).

El conjunto de opciones de tratamiento debidamente verificados no es muy amplio, sin embargo, hay una apuesta cada vez más firme en cuanto a incluir al ejercicio físico durante el tratamiento en pacientes oncológicos debido a que es reconocido como una de las más efectivas estrategias no farmacológicas para mejorar la calidad de vida de las pacientes (Cherwin & Perkhounkova, 2017).

Lo mencionado anteriormente, confirma la necesidad de encaminar estudios para esclarecer la forma más adecuada de administración del ejercicio físico y los mecanismos por los cuales contribuye para ser una alternativa efectiva para el tratamiento. Es por eso que se hace esta propuesta para enfocar al ejercicio como medio de prevención y tratamiento de enfermedades crónicas no transmisibles como el cáncer y contribuir a aumentar la salud y el bienestar en esta población vulnerable (Koelwyn et al., 2017; Manzanares, 2017; Ramírez et al., 2017).

Objetivos

Evaluar el efecto agudo del ejercicio físico sobre marcadores de células Natural Killer en mujeres sanas y con cáncer de mama durante tratamiento de quimioterapia.

Objetivos específicos

- Identificar el porcentaje de células Natural Killer, sus poblaciones CD56^{bright}CD16, CD56^{dim}CD16^{brigh}, y sus receptores NKG2D y NKG2A; en mujeres sanas y con cáncer de mama en estado de reposo.
- Identificar el porcentaje de células Natural Killer, sus poblaciones CD56^{bright}CD16 y CD56^{dim}CD16^{brigh} y sus receptores NKG2D y NKG2A en mujeres sanas y con cáncer de mama después de una sesión de ejercicio físico.
- Analizar el cambio en los porcentajes de las células Natural Killer, sus poblaciones CD56^{bright}CD16 y CD56^{dim}CD16^{brigh} y sus receptores NKG2D y NKG2A antes y después del ejercicio.
- Comparar el efecto del ejercicio sobre el porcentaje de las células NK, sus poblaciones CD56^{bright}CD16 y CD56^{dim}CD16^{brigh} y sus receptores NKG2D y NKG2A entre mujeres sanas y con cáncer de mama.

Material y métodos

- Participantes

Participarán en el estudio 15 mujeres con cáncer de mama que se encuentren en estadios del I-III y que se encuentren durante su tratamiento de quimioterapia adyuvante. También participarán 15 mujeres sanas, utilizando una estrategia de emparejamiento de grupos, de manera que se invitará a participar a mujeres con edades, índice de masa corporal y antecedentes de actividad física equivalentes al grupo de pacientes. Se realizará muestreo por conveniencia (hasta el momento se han evaluado 15 mujeres sanas y 1 paciente con cáncer de mama). Para ambos grupos de participantes se establecieron como criterios de exclusión ser menor de edad, tener afecciones cardiovasculares o metabólicas no controladas o el uso de medicamentos betabloqueantes.

- Procedimientos:

Al grupo de mujeres con cáncer de mama (GCM) se les aplicó individualmente la sesión de ejercicio en el Centro Oncológico de Chihuahua (COC), mientras que las participantes del grupo de mujeres sanas (GS) se citaron en el Laboratorio de Actividad Física y Salud de la Facultad de Ciencias de la Cultura Física en grupos de máximo cuatro sujetos.

La sesión consistió en realizar 30 minutos de ejercicio sobre banda sinfín a una intensidad del 40% de la frecuencia cardiaca de reserva determinada teóricamente con la fórmula de Karvonen. En ambos grupos el ejercicio fue supervisado en todo momento; se tomó la presión arterial antes y después de la sesión y se monitorizó la frecuencia cardiaca con pulsómetro de muñeca marca POLAR OH1. En el GCM se utilizó además la escala de Borg para detectar cualquier alteración en la percepción del esfuerzo de las pacientes.

La toma de muestra se realizó inmediatamente antes y después de la sesión de ejercicio y se almacenó en tubos BD Vacutainer® con anticoagulante EDTA K2 a 4°C para su posterior análisis (dentro de las dos horas posteriores). En el caso del GCM, la muestra se tomó de la vena antecubital o del catéter por personal médico en las instalaciones del COC. La extracción de muestra sanguínea del GS se realizó en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Cultura Física; se tomó de la vena antecubital por personal especializado utilizando material desechable y estéril en todos los procesos y siguiendo los lineamientos estipulados por la NORMA Oficial

Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.

La preparación y análisis de la muestra sanguínea se realizó en el Laboratorio de Citometría de Flujo de la Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas. Para esto se lisaron las muestras con ayuda del Red Blood Cell Lysing Buffer Hybri-Max™. Posteriormente se realizó la tinción con anti-CD3 PerCP (Becton Dickinson, # cat 347344), anti-CD16 APC-H7 (Becton Dickinson, # cat 560195) , anti-CD56 APC (Becton Dickinson, # cat 555518) , anti-NKG2D FITC (Biolegend, # cat 320820), anti-NKG2A Biotinilado (Miltenyi Biotec # cat 130113564) y Biotin PE (Becton Dickinson, # cat 349023). La adquisición de la muestra se llevo a acabo en el citómetro de flujo Attune NxT de Thermo Fisher Scientific y los resultados arrojados se analizaron con el Software FlowJo X de donde se obtuvieron los porcentajes de las poblaciones celulares para poder realizar la base de datos.

Este proyecto obtuvo la aprobación del Comité de Ética en Investigación del Hospital Ángeles de Chihuahua, se aseguró su apego a las normas de la Declaración de Helsinki y se le solicitó a cada participante la respectiva carta de consentimiento informado y una autorización médica (esta última en el caso de las pacientes).

- Análisis estadístico

Hasta el momento se analizaron los datos con el paquete estadístico Studio R y SPSS. Se realizó prueba de normalidad con Shapiro-Wilk. Se aplicó un Análisis de Varianza Mixto para determinar las diferencias antes y después del ejercicio y respecto al nivel de actividad física de las participantes (activas o sedentarias). Todas las comparaciones se analizaron con un nivel de significancia ≤ 0.05 .

Cronograma del proyecto

Se muestra a continuación un cronograma del proyecto de la fase que falta del proyecto:

Actividad	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio
Evaluación de participantes faltantes de ambos grupos					
Análisis de los datos de citometría de flujo					
Análisis estadístico de los datos					
Redacción de Resultados y discusión					

Resultados

Se muestran los resultados obtenidos de la investigación en curso.

Se evaluaron a 19 mujeres del grupo de mujeres sanas que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos, sin embargo, se eliminaron los datos de siete participantes debido a que consumían medicamentos antidepresivos y ansiolíticos los cuales afectaban los valores de las células NK, quedando una muestra final de 12 para el GS.

La figura 1 muestra los resultados del efecto del ejercicio sobre el porcentaje de células NK totales, donde se observa un incremento estadísticamente significativo de $p < 0.001$ después de la carga única.

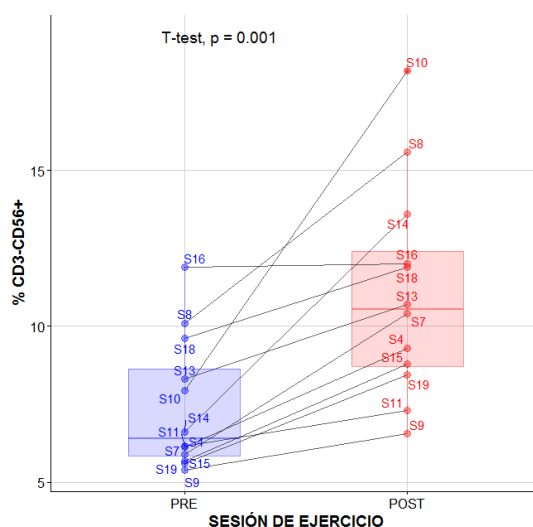


Figura 1. Porcentaje de células NK totales $CD3^+CD56^+$ antes y después de una sesión de ejercicio físico.

En las figuras 2 y 3 se muestran las diferencias entre las evaluaciones PRE y POST ejercicio de las sub-poblaciones de las células NK. La subpoblación $CD56^{bright}CD16$ muestra un decremento en su porcentaje, mientras que la $CD56^{dim}CD16^{bright}$ aumenta, ambas de manera significativa ($p=0.001$).

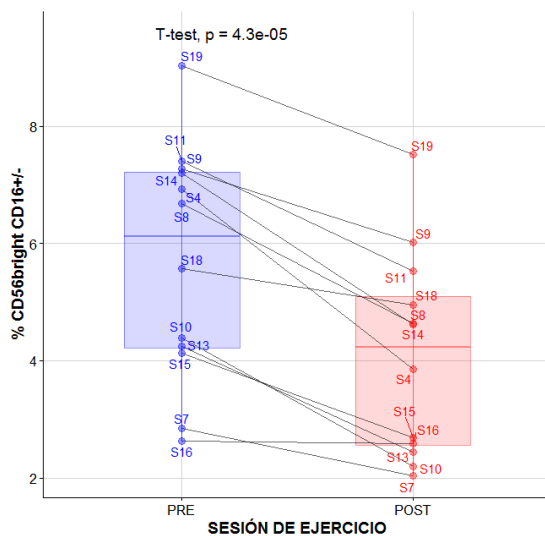


Figura 2. Porcentaje de células $CD56^{bright}CD16^{+/-}$ antes y después de una sesión de ejercicio físico.

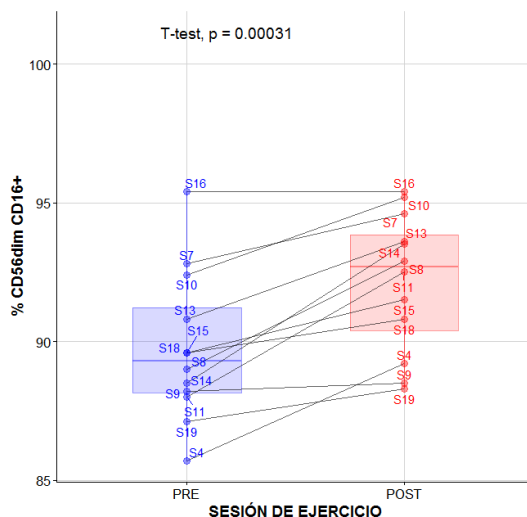


Figura 3. Porcentaje de células $CD56^{dim}CD16^{bright}$ antes y después de una sesión de ejercicio físico.

Respecto a los receptores de inhibición y activación; en el receptor NKG2D no se encontró diferencia significativa entre su porcentaje antes y después del ejercicio (Figura 4) mientras que en receptor NKG2A se encontró una disminución significativa de $p=0.0309$ como efecto de la carga única (Figura 5).

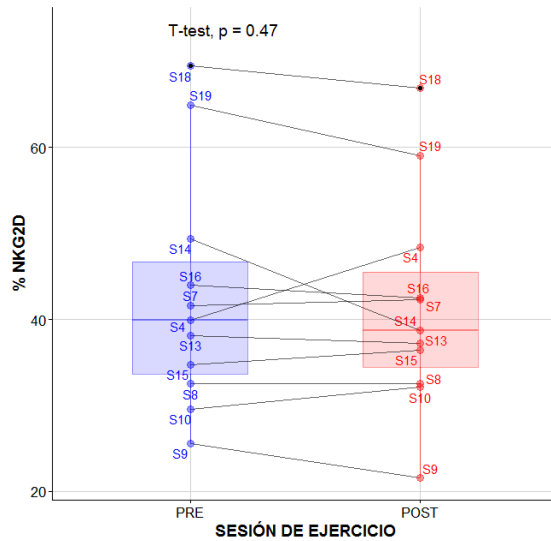


Figura 4. Porcentaje de células positivas al receptor de activación NKG2D antes y después de una sesión de ejercicio físico

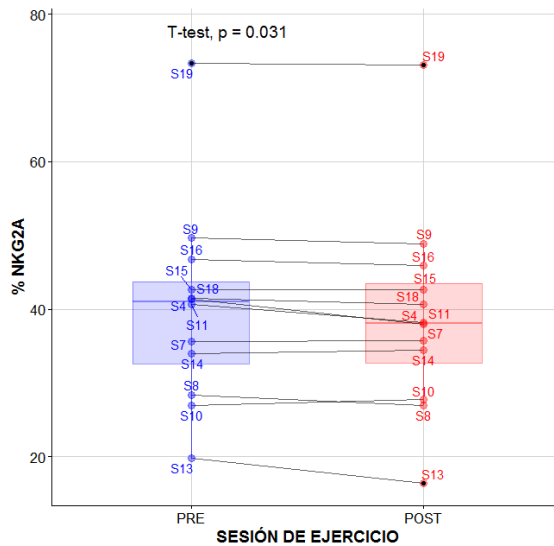


Figura 5. Porcentaje de células positivas al receptor de inhibición NKG2A antes y después de una sesión de ejercicio físico

En la única paciente con cáncer de mama evaluada hasta este momento durante su quimioterapia se observó un incremento en la población $CD3^+CD56^+$ de 12.4% a 22.4% por efecto del ejercicio, si bien no se pueden hacer conclusiones con los resultados de una paciente, en el siguiente apartado se discute sobre el tema.

Discusión

Se encontró un aumento significativo en las células NK totales de sangre periférica en las participantes sanas, lo cual coincide con los resultados de varios autores donde se observa una respuesta inmediata de células NK por efecto del ejercicio. (Brahmi, Thomas, Park, Park, & Dowdeswell, 1985; Crist, Douglas M.; Mackinnon, Laurel Traeger; Thompson, Robert F.; Atterbom, Hemming A.; Egan, 1989; Fahlman et al., 2000; Hagstrom et al., 2016; Millard et al., 2013; Moyna et al., 1996; Ogawa, Oka, Yamakawa, & Higuchi, 2005). Aunque el incremento de las células NK por efecto del ejercicio era esperado, aún falta información que aclare la modificación en sus poblaciones principales y sus receptores. Aparentemente un aumento de la población celular con función citotóxica y una disminución en la población efectora, abre la posibilidad de seguir estudiando el efecto del ejercicio sobre estas células para poder implementarlo como prevención y parte del tratamiento de enfermedades donde el sistema inmune necesite ser reforzado (Bigley et al., 2014; Idorn & Hojman, 2016; Paul & Lal, 2017).

Con respecto al aumento en la población $CD56^{dim}CD16^{brigh}$ debido al ejercicio, consideramos podría deberse a que sus principales reservorios son el bazo y el lecho vascular, los cuales son estimulados directamente por el aumento del flujo sanguíneo provocado por el ejercicio, además de que las células de esta población tienen una alta expresión de receptores beta adrenérgicos lo que sugiere son más sensibles a la epinefrina liberada durante el esfuerzo. Esto ayudaría a justificar por qué el ejercicio físico ayuda a la inmunovigilancia (Campbell & Turner, 2018; Idorn & Hojman, 2016).

Por su parte, las células de la población $CD56^{brigh}CD16$, tienen alta cantidad de la molécula de adhesión CD62L lo que favorece su tráfico hacia los ganglios linfáticos y sitios de inflamación, donde desde ahí puede desencadenar una reacción inmune adaptativa, esto podría explicar en parte su decremento en sangre periférica como efecto del ejercicio, además de que no se descarta que el efecto del ejercicio pueda favorecer la maduración de células $CD56^{brigh}$ hacia células $CD56^{dim}$ (Campbell & Turner, 2018).

Por otro lado, el aumento en el receptor de activación NKG2A se podría explicar por la disminución observada en la población $CD56^{brigh}$ la cual tiene una alta expresión de este receptor de inhibición (Millard et al., 2013), además de que se ha observado en la población $CD56^{dim}$ la pérdida de este receptor después del ejercicio (Campbell & Turner, 2018).

Gupta y cols., (Gupta, Bigley, Markofski, Laughlin, & LaVoy, 2018) menciona que el ejercicio físico aerobio moviliza preferentemente células NK altamente diferenciadas,

es decir maduras, y este fenotipo altamente diferenciado se caracteriza por ser negativo para el receptor NKG2A lo cual sugiere que lograr disminuir la expresión de este marcador a través del ejercicio podría aumentar la NKCA contra células tumorales.

Respecto al efecto del ejercicio en pacientes con cáncer de mama tenemos como resultado preliminar y de manera muy general que el ejercicio físico al incrementar el porcentaje de células NK en sangre periférica mejora la capacidad de la célula para reaccionar ante una célula transformada; además de que se movilizan preferentemente células altamente diferenciadas lo que significan células maduras y más citotóxicas.

Se sabe que las NK son capaces de reconocer tumores mamarios con ayuda de sus receptores, además se han asociado índices altos de células NK citotóxicas con un buen pronóstico ya que esto se ha visto en pacientes que no progresaron en su enfermedad. Sin embargo las células NK presentes en el tumor mamario, son pocas, tienen un escaso fenotipo citotóxico y se caracterizan por tener un deterioro funcional, esto debido en parte al microentorno tumoral hipóxico y con escasa vascularización (Bigley et al., 2014; Gupta et al., 2018).

Al poder trasladar y comprobar estos efectos que encontramos en las mujeres sanas en las pacientes, se podría incrementar el número de células NK citotóxicas y contrarrestar este deterioro funcional; además si a esto le agregamos los efectos crónicos que produce el ejercicio que son disminuir la hipoxia y aumentar la vascularización del tumor se podría aumentar la cantidad y calidad de los linfocitos infiltrados en el tumor (Idorn & Hojman, 2016; Koelwyn et al., 2017).

Con la información encontrada aún no se determinan con suficiencia la relación causa efecto de las variables, por lo que es necesario seguir aportando estudios donde podamos observar el comportamiento de estas células sobre otras metodologías de ejercicio así como poder observar su efecto crónico. También es necesario ampliar el panel de marcadores de células NK para poder determinar más específicamente el fenotipo movilizado por efecto del ejercicio.

Estos resultados apoyan y concuerdan con otros estudios donde se podría lograr establecer al ejercicio físico como un pilar fundamental y reconocido para reforzar los tratamientos oncológicos integrales.

Recomendaciones

Se recomienda aumentar la muestra de participantes clínicamente sanas y establecer la muestra de pacientes con cáncer de mama durante la quimioterapia para poder realizar un análisis estadístico más completo y poder generar conclusiones más firmes.

También se recomienda aumentar el número de marcadores relacionados con las células NK para poder evaluar su actividad citotóxica por efecto del ejercicio.

Conclusiones

El efecto del ejercicio físico provoca un aumento inmediato en el porcentaje de células NK en mujeres sanas, así como un aumento en su población citotóxica. Se espera encontrar el mismo comportamiento en pacientes con cáncer durante su tratamiento de quimioterapia, lo que se traduciría en un aumento de la inmunovigilancia e inmunogenicidad, para poder establecer al ejercicio como parte fundamental del tratamiento oncológico de las pacientes.

Referencias

- Abreu, Y., & Beltrán, P. (2015). El cáncer de mama entre las juarenses. *Cuadernos Fronterizos*.
- Arango Prado, M. del C., & Rodríguez-Padilla, C. (2016). Role of the immune system in the microenvironment of malignant tumors of breast. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 32(2), 190–202.
- Bigley, A. B., Rezvani, K., Chew, C., Sekine, T., Pistillo, M., Crucian, B., ... Simpson, R. J. (2014). Acute exercise preferentially redeploys NK-cells with a highly-differentiated phenotype and augments cytotoxicity against lymphoma and multiple myeloma target cells. *Brain, Behavior, and Immunity*, 39, 160–171. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2013.10.030>
- Brahmi, Z., Thomas, J. E., Park, M., Park, M., & Dowdeswell, I. R. G. (1985). The effect of acute exercise on natural killer-cell activity of trained and sedentary human subjects. *Journal of Clinical Immunology*, 5(5), 321–328. <https://doi.org/10.1007/BF00918251>
- Campbell, J. P., & Turner, J. E. (2018). Debunking the myth of exercise-induced immune suppression: Redefining the impact of exercise on immunological health across the lifespan. *Frontiers in Immunology*, 9(APR), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00648>
- Castrezana-Campos, M. D. R. (2017). Geografía del cáncer de mama en México. *Investigaciones Geográficas*, (93), 140–157. <https://doi.org/10.14350/ig.56879>
- Cherwin, C. H., & Perkhounkova, Y. (2017). Distress-Based Gastrointestinal Symptom Clusters and Impact on Symptom Interference and Quality of Life in Patients with a Hematologic Malignancy Receiving Chemotherapy. *Journal of Pain and Symptom Management*, 53(4), 751–758. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2016.11.005>
- Crist, Douglas M.; Mackinnon, Laurel Traeger; Thompson, Robert F.; Atterbom, Hemming A.; Egan, P. A. (1989). Physical Exercise Increases Natural Cellular-Mediated Tumor Cytotoxicity in Elderly Women. *Gerontology*, 35(2–3), 66–71. Retrieved from http://www.ghbook.ir/index.php?name=های انجمن و ف رهننگ&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13650&page=73&chckhash=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component
- Fahlman, M. M., Boardley, D., Flynn, M. G., Braun, W. A., Lambert, C. P., & Bouillon, L. E. (2000). Effects of endurance training on selected parameters of immune function in elderly women. *Gerontology*, 46(2), 97–104. <https://doi.org/10.1159/000022142>
- Gupta, P., Bigley, A. B., Markofski, M., Laughlin, M., & LaVoy, E. C. (2018). Autologous serum collected 1 h post-exercise enhances natural killer cell cytotoxicity. *Brain, Behavior, and Immunity*, 71, 81–92. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.04.007>
- Hagstrom, A. D., Marshall, P. W. M., Lonsdale, C., Papalia, S., Cheema, B. S., Toben, C., ... Green, S. (2016). The effect of resistance training on markers of immune function and inflammation in previously sedentary women recovering from breast cancer: a randomized controlled trial. *Breast Cancer Research and Treatment*, 155(3), 471–482. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3688-0>

- Idorn, M., & Hojman, P. (2016). Exercise-Dependent Regulation of NK Cells in Cancer Protection. *Trends in Molecular Medicine*, 22(7), 565–577. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.05.007>
- INEGI. (2015). Estadísticas a Propósito Del Día Mundial De La Lucha Contra El Cáncer De Mama (19 De Octubre). *Inegi*, 1–14.
- Jeong Kim, J., Shin, Y. A., & Hwa Suk, M. (2015). Effect of a 12-week walking exercise program on body composition and immune cell count in patients with breast cancer who are undergoing chemotherapy. *J. Exerc. Nutr. Biochem*, 19(3), 255–262. <https://doi.org/10.5717/jenb.2015.15092812>
- Kindt, T., Goldsby, R., & Osborne, B. (2007). *Inmunología de Kuby. Immunology* (Sexta edic). México: McGraw Hill Interamericana. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:inmunology#0%5Cnhttp://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Inmunology%2030>
- Knaul. (2015). Cáncer de mama en México: una prioridad apremiante. *Frontiers in Bioscience*, 20(4), 4328. <https://doi.org/10.1107/S1600536807019769>
- Knaul, F. M., Arreola-Ornelas, H., Velázquez, E., Dorantes, J., Méndez, O., & Avila-Burgos, L. (2009). The health care costs of breast cancer: the case of the Mexican Social Security Institute. *Salud Pública de México*, 51(Suppl 2), 286–295. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342009000800019>
- Koelwyn, G. J., Quail, D. F., Zhang, X., White, R. M., & Jones, L. W. (2017). Exercise-dependent regulation of the tumour microenvironment. *Nature Reviews Cancer*, 17(10), 620–632. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.78>
- Manzanares, J. (2017). Aproximación geoespacial a los determinantes sociales de cáncer : Evidencia para Chihuahua. *Frontera Norte*, 29(57), 83–106.
- Millard, A. L., Valli, P. V., Stussi, G., Mueller, N. J., Yung, G. P., & Seebach, J. D. (2013). Brief exercise increases peripheral blood NK cell counts without immediate functional changes, but impairs their responses to ex vivo stimulation. *Frontiers in Immunology*, 125(MAY). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00125>
- Mohar, A., Reynoso, N., Villarreal-Garza, C., Bargalló-Rocha, J. E., Arce-Salinas, C., & Lara-Medina, F. (2015). Cáncer de mama en el Instituto Nacional de Cancerología. Experiencia del Seguro Popular 2007-2013. *Revista Mexicana de Mastología*, 5(1), 6–11.
- Morales-Flores, F. J., Trejo-Tellez, B. I., & Ruiz-Vera, V. M. (2017). Caracterización de la geografía de las muertes por cáncer en México. *Agroproductividad*, 9, 106–111. Retrieved from http://www.colpos.mx/wb_pdf/Agroproductividad/2017/AGROPRODUCTIVIDAD_10-9-2017.pdf#page=5
- Moyna, N. M., Acker, G. R., Weber, K. M., Fulton, J. R., Robertson, R. J., Goss, F. L., & Rabin, B. S. (1996). Exercise-induced alterations in natural killer cell number and function. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 74(3), 227–233. <https://doi.org/10.1007/BF00377445>

- Ogawa, K., Oka, J., Yamakawa, J., & Higuchi, M. (2005). A SINGLE BOUT OF EXERCISE INFLUENCES NATURAL KILLER CELLS IN ELDERLY WOMEN, ESPECIALLY, 19(1), 45–50.
- Paul, S., & Lal, G. (2017). The molecular mechanism of natural killer cells function and its importance in cancer immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 13(8), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01124>
- Pedersen, L., Idorn, M., Olofsson, G. H., Lauenborg, B., Nookaew, I., Hansen, R. H., ... Hojman, P. (2016). Voluntary running suppresses tumor growth through epinephrine- and IL-6-dependent NK cell mobilization and redistribution. *Cell Metabolism*, 23(3), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.01.011>
- Ramírez, K., Acevedo, F., Herrera, M. E., Ibáñez, C., & Sánchez, C. (2017). Actividad física y cáncer de mama: un tratamiento dirigido. *Revista Médica de Chile*, 145(1), 75–84. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872017000100011>
- Rizo, P., González, A., Sánchez, F., & Murguía, P. (2015). Tendencia de la mortalidad por cáncer en México: 1990-2012. *Evidencia Médica e Investigación En Salud*, 8, 5–15.
- Schmidt, T., Hermes, A., & Weisser, B. (2017). Physical Training Influences the Immune System of Breast Cancer Patients. *Deutsche Zeitschrift Für Sportmedizin*, 68(03), 53–60. <https://doi.org/10.5960/dzsm.2017.275>
- Tsiouris, A., Ungar, N., Haussmann, A., Sieverding, M., Steindorf, K., & Wiskemann, J. (2018). Health Care Professionals' Perception of Contraindications for Physical Activity During Cancer Treatment. *Frontiers in Oncology*, 8, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00098>
- Uclés Villalobos, V., & Espinoza Reyes, R. A. (2017). Prescripción del ejercicio en el paciente con cáncer. *Revista Clínica de La Escuela de Medicina de La Universidad de Costa Rica*, 7(II), 11–18. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=72585>
- World Health Organization. (2010). Recomendaciones Mundiales sobre Actividad Física para la Salud. Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication, (Completo), 1–58. https://doi.org/978_92_4_359997_7