

43
2ej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



Facultad de Estudios Superiores
"CUAUTITLAN"

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS EFECTOS
ADVERSOS PRODUCIDOS EN RATAS WISTAR
(BLANCAS) POR DOS COMPUESTOS CONTRA-
CEPTIVOS INYECTABLES DE USO COMER-
CIAL EN MEXICO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
LIDIA RANGEL TRUJANO

Directora de Tesis: Q.F.B. Maricela Noé Martínez
Asesor: Dr. Jorge Tortora Pérez



Febrero 1988

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

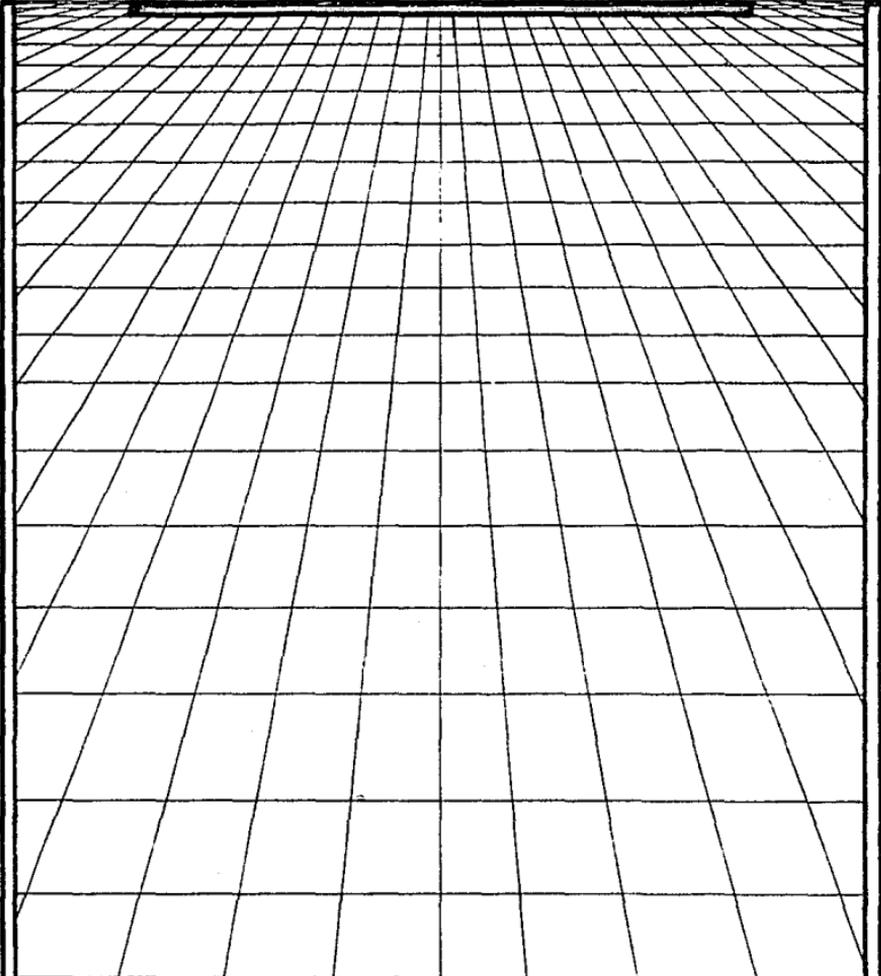
Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

T E M A	PAGINA
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	
1.1 GENERALIDADES	3
1.2 EFECTOS GENERALES PRODUCIDOS POR LOS ANTICONCEPTIVOS	5
1.3 OTROS EFECTOS PRODUCIDOS POR LOS AN- TICONCEPTIVOS	5
1.4 MECANISMOS DE ACCION DE LOS ANTICON- CEPTIVOS	6
1.5 METODOS MAS USUALES PARA LOGRAR LA - ANTICONCEPCION	6
1.6 GENERALIDADES DEL MEDICAMENTO NORIS- TERAT	8
1.7 GENERALIDADES DEL MEDICAMENTO PERLU- TAL	9
OBJETIVO	14
MATERIAL	15
METODOS	17
RESULTADOS	21
DISCUCION	37
CONCLUSIONES	38

ANEXO No. 1	39
ANEXO No. 2	49
BIBLIOGRAFIA	50



INTRODUCCION

I N T R O D U C C I O N

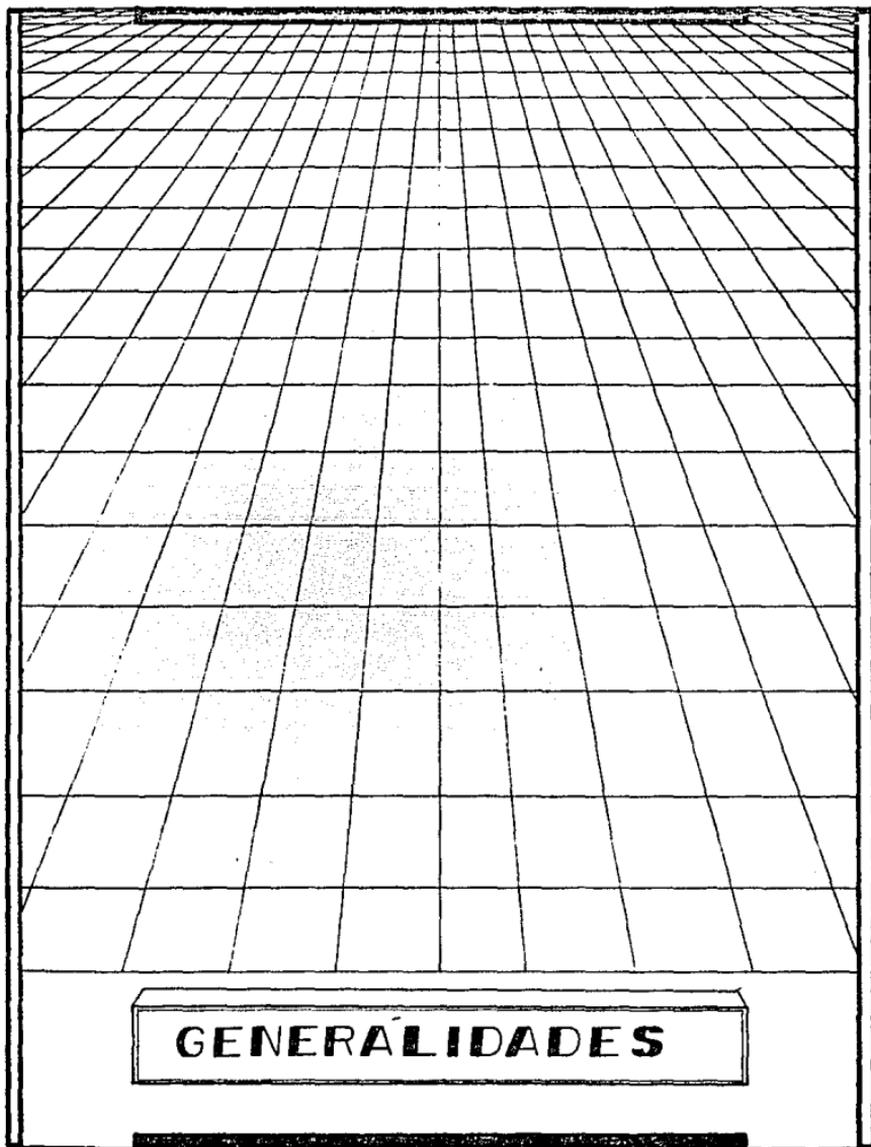
En el mundo se ha observado un gran incremento de la población, lo que ha sido causa de la búsqueda de un método --- efectivo para controlar la concepción y a su vez que éste cause -- los menos daños al organismo.

Los anticonceptivos orales son los medicamentos - más estudiados con respecto a los inyectables, en algunos estudios han reportado que causan diversas anomalías histológicas en el ovario (19), así como en algunas enzimas del organismo (17).

Desde los comienzos de 1971 el Programa Especial de la OMS de Investigadores sobre la Reproducción humana se ha --- ocupado de evaluar la inocuidad y eficiencia de los anticonceptivos inyectables hormonales. En respuesta a cuestiones suscitadas por -- gobiernos y por la comunidad científica, se han llevado a cabo nu- merosos ensayos clínicos, en particular estudios en mujeres que -- habían recibido anticonceptivos inyectables, así como estudios de neoplasia que presentaban algunos testigos, investigaciones de --- niños nacidos de mujeres que habían recibido anticonceptivos inye^u tables, igualmente se han evaluado datos procedentes de otros estu dios clínicos, toxicológicos o bien realizados en animales. Como - los anticonceptivos inyectables son de acción prolongada se han es tudiado menos que los anticonceptivos orales, por lo mismo son ne- cesarios más investigaciones para identificar posibles efectos --- adversos (16).

Existe la experiencia de las prácticas de anticon^u ceptivos en los Laboratorios de Farmacología II de la FES-Cuauti- tlan, donde se pudieron observar alteraciones en las ratas de expe rimentación al administrarseles anticonceptivos inyectables como: NORISTERAT (Enantato de Noretisterona), DEPRANS (Acetofénido de la 16 alfa, 17 alfa dihidroxiprogesterona y Enantato de Estradiol) -- y PERLUTAL (Acetofénido de la 16 alfa, 17 alfa dihidroxiprogeste- rona y Enantato de Estradiol).

Por todo lo anterior el propósito de este trabajo fué la comprobación y comparación de los efectos adversos producidos por los anticonceptivos NORISTERAT Y PERLUTAL en ratas.



GENERALIDADES

1.1 GENERALIDADES

Los anticonceptivos son medicamentos utilizados clínicamente para producir la inhibición de la ovulación por - diferentes mecanismos de acción. Existen muchas preparaciones que varían químicamente para que sí tienen muchas propiedades en común son preparaciones de gestágenos o bien pueden ir en combinación -- con estrogénos (18).

Los estrogénos son todos aquellos fármacos capaces de provocar el estro o celo en los animales. Pueden ser semisintéticos o bien naturales, estos últimos pueden ser producidos y liberados de los siguientes lugares:

- a) Del ovario cuando son liberados en el principio del ciclo y son elaborados en el folículo dentro de la teca interna (14).
- b) Del cuerpo amarillo si se producen y liberan en la etapa progestacional del ciclo menstrual y se elaboran dentro de las células tecales (14).

El estrogéno ovárico principal en mujeres es el estradiol. Casi todo el estrogéno en sangre se une a una globulina - fijadora de la hormona sexual (SHBG). Este es activo administrado - por vía oral como terapéutica de restitución, pero su biodisponibilidad es baja por el metabolismo hepático, por lo tanto en general se usan derivados semisintéticos u otros estrogénos. El estrogéno es esencial para un desarrollo sexual normal en mujeres, activa -- el crecimiento de las estructuras genitales (vagina, útero, vías - genitales) durante la infancia y la aparición de características - sexuales secundarias y crecimiento rápido en la pubertad. El estrogéno tiene diversos efectos metabólicos; modifica la concentración sérica de proteínas, reduce la resorción ósea y aumenta la absor- -- ción de nutrientes en las vías gastrointestinales, aumentan la --- coagulación sanguínea y la concentración plásmatica de triglicéridos mientras reduce las lipoproteínas alfa y colesterol plásmatico también es un retroalimentador efectivo que reduce la FSH hipofi-- siaria (9). El estradiol es secretado en las células de la teca -

interna y granulos de los folículos en desarrollo se mantiene a -- niveles bajos en la fase proliferativa, se eleva hasta alcanzar su nivel más alto uno o dos días antes del alza de la hormona luteinizante (LH), decrece y se eleva de nuevo en la fase secretoria (8).

Dickey en 1974, sostiene que en los anticonceptivos orales, los estrogénos semisintéticos usados inhiben la hormona folículo estimulante (FSH) para impedir el crecimiento y maduración del folículo (2), también se ha visto que una inyección de -- estrogénos provoca espesamiento del moco cervical y cornificación de las capas externas y que en el útero provoca un aumento de peso y tamaño en los animales castrados (14).

Los gestágenos o progestágenos son aquellos fármacos que producen cambios en el endometrio para permitir la implantación o anidación del huevo. La progesterona es el progestágeno principal en las mujeres, es producida en los ovarios, testículos y suprarrenales, se metaboliza con rapidez en hígado. Por lo tanto tiene una biodisponibilidad muy baja y una vida muy corta. Estas hormonas estimulan el desarrollo del tejido secretante mamario y la maduración del endometrio uterino. Tiene un efecto mucho menor que los estrogénos en las proteínas plásmaticas pero alteran de -- manera significativa el metabolismo de carbohidratos y estimulan el depósito de grasas (9). Uno de los derivados principales es la dihidroxiprogesterona, la cual tiene dos grupos hidroxilo en las posiciones 16 alfa, 17 alfa logrando con esto que su potencia o -- actividad aumente (14).

Los gestágenos semisintéticos utilizados en los anticonceptivos inhiben el alza de la LH y FSH, las cuales son necesarias para la ovulación (2).

1.2 EFECTOS GENERALES PRODUCIDOS POR LOS ANTICONCEPTIVOS

Macroscópicamente el ovario presenta una inactividad relativa, hay un mínimo desarrollo folicular, faltan los cuerpos amarillos y los folículos mayores, hay edema del estroma (8); también se pueden observar una disminución en la concentración de estrogénos excretados (14). El útero muestra hipertrofia en el cuello y formación de polipos. Viéndose que las preparaciones que --- contienen 19-noresteroides se observa una mayor atrofia glándular y menos sangrado, los pechos se ven estimulados por los estrogénos notándose algún crecimiento. Cuando se administran gestágenos y -- estrogénos juntos se tiende a suprimir la lactación (8).

1.3 OTROS EFECTOS PRODUCIDOS POR LOS ANTICONCEPTIVOS

- A) En el Sistema Nervioso Central (SNC) existe una inhibición en la secreción de las gonadotropinas debido a la influencia ejercida en el hipotálamo de estos agentes anticonceptivos (8).
- B) Efectos sobre las funciones Endócrinas; se ha notado un incremento en la concentración de las globulinas alfa 2, conduciendo a una alteración crónica en la tasa de secreción del cortisol - debido a que los estrogénos cambian la estructura y función de las glándulas suprarrenales. Se ha observado también una modificación del Sistema angiotensina-aldosterona, incrementándose la actividad y secreción de la aldosterona (8).
- C) Efectos Hemáticos; los más importantes son: fenómenos trombém-bolicos, existe alteración en el tiempo de sangrado y coagulación.
- D) Efectos Hepáticos; se han advertido cambios en el metabolismo - de los carbohidratos y lípidos causados por alteraciones en el metabolismo hepático, aunque esto sea debido a los metabólitos- de los anticonceptivos y no a ellos en sí (8).

- E) Efectos sobre el Sistema Cardiovascular; en estudios realizados en cultivos de tejidos se ha observado en músculo liso de las - arterias una estimulación llevando consigo una intensificación del proceso de la arterioesclerosis. Se ha notado que existe un incremento en el gasto cardíaco produciendo aumento de la presión sanguínea tanto sistólica como diastólica (8).
- F) Trastornos en el ciclo menstrual; existen ciclos largos o cortos con aumento o disminución de flujo (21).
- G) Retorno tardío de la fertilidad (21).
- H) Aumento de peso corporal (21).

1.4 MECANISMOS DE ACCION DE LOS ANTICONCEPTIVOS

- 1.- Inhiben la ovulación debido a una disminución de la secreción de las gonadotropinas de la hipófisis anterior, sobre todo la hormona luteinizante (LH), (14,21,8).
- 2.- Aumentan la viscosidad del moco cervical, lo cual lo hace ---- inepto para ser atravesado por los espermatozoides para la migración por el canal cervical (14,21,8).
- 3.- Acción sobre el endometrio, haciéndolo inadecuado para la im-- plantación y anidación del huevo (14,21,8).
- 4.- En las trompas de falopio producen una interferencia en el --- transporte del óvulo y/o en el transporte del esperma (14,21,8).

1.5 METODOS MAS USUALES PARA LOGRAR LA ANTICONCEPCION

VIA ORAL:

- a) METODO SECUENCIAL O SUCESIVO: consiste en administrar primero - el estrogéno, produciéndose una proliferación del endometrio y en

la última parte del ciclo se administran juntos el estrogéno y el gestágeno, produciéndose la fase de secreción con edema del estroma (14).

b) METODO COMBINADO O SIMULTANEO: en donde se produce una fase secretoria en el endometrio y edema en el estroma con aumento de las células, a la mitad del ciclo se nota un agotamiento glandular semejando un embarazo, al continuar el desarrollo estromal después de interrumpir la administración anticonceptiva se desprende la mucosa y se produce la menstruación, (14).

c) TERAPEUTICA CONTINUA: se realiza administrando progestágenos -- únicamente (14).

VIA PARENTERAL:

Los anticonceptivos inyectables pueden presentarse como combinaciones de estrogénos-progestágenos o progestágenos solos, su eficacia en la prevención del embarazo ha sido probada, sin embargo su inocuidad no esta completamente asegurada. Los anticonceptivos más usados y estudiados son: el Acetato de la Medroxiprogesterona --- (DEPO-PROVERA), el cual suele ser utilizado trimestralmente; el -- Enantato de Noretisterona (NORISTERAT) derivado de la 19-nortesterona y la combinación de estrogéno-progestágeno: Acetofénido de la 16 alfa, 17 alfa dihidroxiprogesterona y Enantato de Estradiol --- (PERLUTAL), los cuales tienen una acción aproximada de un mes o más, (14,16).

OTROS METODOS:

Los dispositivos intrauterinos son otro tipo de anticonceptivos que pueden tener variadas formas y tamaños, además de contener diferentes hormonas como es la progesterona la cual puede encontrarse en diferentes concentraciones según sea el tiempo de duración de su acción dentro del organismo. Otros más serían los métodos quirúrgicos por ejemplo la salpingocrecia (18).

1.6 GENERALIDADES DEL MEDICAMENTO NORISTERAT

El noristerat es un anticonceptivos inyectable, - contiene como principio activo al enantato de noretisterona, es un gestágeno derivado del andostrano, compuesto 19-noresteroides emparentado con la testosterona, posee pocas o nulas propiedades andrógenicas (14).

Desde 1966 se ha administrado en forma de preparación aceitosa en dosis de 200 mg por inyección intramuscular. Su efecto radica en inhibir la ovulación y tal vez también tenga efectos sobre el endometrio, la función tubárica y el moco cervical. En ensayos clínicos se ha observado que la máxima eficacia del noristerat para evitar el embarazo se produce cuando se administra cada 60 días los primeros 6 meses y a continuación cada 60-84 días; aunque realmente se usa como anticonceptivo mensual (16).

En estudios realizados con noristerat en roedores se ha observado una incidencia de tumores semejantes a los producidos por otros progestágenos, además presenta actividad estrogénica en estos animales de experimentación. En ratas se han observado -- tumores de mama y alteraciones oculares, pero se ha considerado -- que los efectos progestagénicos observados y las alteraciones debidas a la actividad estrogénica no tienen importancia toxicológica- (16).

Se ha encontrado que la noretisterona tiene un -- alto grado de abandono debido a las irregularidades menstruales, aunque tiene un grado bajo de amenorrea. En mujeres mexicanas fué probado el noristerat encontrándose como resultado una gran deserción debido a los cambios en el patrón de sangrado menstrual y a la amenorrea siendo ésta última la principal causa de abandono, el aumento de peso en este caso fué moderado (4 Kg) y no fué motivo de --- abandono. Existen pocos datos acerca de los efectos metabólicos -- que produce el noristerat o enantato de noretisterona, pero parece que no afecta a la mayoría de funciones bioquímicas (4).

En Perú, en 1957 se comenzaron las pruebas clínicas con este medicamento y fué hasta 1967 cuando se llevo al mercado, en 1971 fué eliminado y suspendida la investigación hasta que se realizaran análisis específicos en las ratas ya que produjo nódulos mamarios. Sin embargo algunos investigadores han dicho que los estudios en las ratas no pueden ser aplicados a los humanos, esto origina el registro del enantato de noretisterona en más de 70 países (21).

Un estudio realizado en la clínica Obstétrica Universitaria de Santiago de Chile, al ser administrado enantato de noretisterona se presentaron diversos efectos secundarios como: Cefalea, mareos, tensión, nerviosismo, edema menstrual, sensibilidad en las mamas, además por medio de un papanicolao se observó frecuentemente que el cervix tomaba un color violáceo y aumentaba de peso, una explicación probable de este efecto pudiera ser que existe un espesamiento del moco cervical durante el período teórico de la ovulación además de encontrarse lleno de leucocitos y mostrar negatividad a la cristalización. Posteriormente se encontró que al administrarse una inyección cada tres meses no ayudaba a mantener la efectividad anticonceptiva por que se presentaron embarazos después de dos o tres meses (25).

1.7 GENERALIDADES DEL MEDICAMENTO PERLUTAL

Es un anticonceptivo inyectable de tipo mensual, como principio activo contiene Acetofénido de la 16 alfa, 17 alfa-dihidroprogesterona (ADP) y Enantato de Estradiol (EE) con 150 y 10 mg respectivamente.

Un estudio realizado para conocer la actividad del ADP dió como resultado ser un buen agente progestacional cuando se administraba parenteralmente, siendo de una a dos veces más potente que la progesterona; a su vez al ser administrado en forma oral se encontró que era dos veces más potente que la noretisterona. Se demostró que su actividad progestacional duraba de 20 a 25 días --

y que no presentaba actividad androgénica, estrogénica y glucocorticoide (11). Otro estudio demostró que el ADP era bueno para mantener el embarazo en ratas ovariectomizadas (7).

La administración del ADP produjo un cambio en el ciclo estral de la rata que dura de uno a cuatro días, éste lo mantuvo en fase diestro cuando se administraba en dosis altas, mientras que con dosis de 0.2 mg está alteración no se ve. Así mismo - encuentran que la administración de este fármaco no interfiere en el transporte de óvulos como tampoco en las ratas recién nacidas. La administración continua de ADP muestra que existe una alteración - en los pesos de los ovarios con dosis altas de 1.5 y 25 mg, en cambio con dosis de 0.04 y 0.2 mg no se muestran estas alteraciones, - todo lo anterior muestra que el ADP tiene acción progestagénica -- debido a la probable inhibición de las gonadotropinas pituitarias, trayendo consigo la supresión de la ovulación y de crecimiento de los estrogénos, este fármaco al tener propiedades antiestrogénicas explica la inhibición del ciclo estral, manteniendo a las ratas -- en fase diestro, su acción gonadotropínica se demuestra al observar la atrofia del ovario y a la ausencia de folículos maduros y - cuerpo lúteo después del tratamiento, esto se normaliza al dejar - de administrarse el ADP, en machos muestra que alarga el ciclo espermatogénico y no afecta en nada a la fertilidad (12).

En 1961, el ADP es conocido por sus efectos progestacionales por lo tanto Taymor y colaboradores realizaron un estudio de este compuesto en mujeres, observándose que al administrarse el ADP en una cantidad de 100 mg, existió el retiro de flujo en el 14avo al 28avo día, mostrando que no hay ovulación al tomar -- las cantidades presentes de pregnandiol. En el endometrio se mostró edema estromal, así como sangría uterina al 19 días del ciclo, esto hace necesario que se administren estrogénos orales. También al administrar ADP en una cantidad de 100 mg y EE en cantidad de - 10 mg se tuvieron como resultados: el retiro del flujo entre 11avo y 21avo día, algunas de las mujeres tuvieron que abandonar el --- tratamiento debido a que se presentó sangría uterina fuerte e ---

irregular al igual que notaron tardanza en el regreso del flujo,-- también se observó un período de anovulación y amenorrea durante 3 meses. El endometrio muestra las mismas características que cuando se administra ADP unicamente (22).

En 1969, Sheffield y colaboradores realizaron experimentos en mujeres fértiles para conocer los cambios endometriales en respuesta a la administración combinada de ADP y EE, observándose que al administrarse la tercera inyección, en el cuarto -- día de la administración empieza un sangrado en la fase de proliferación y regeneración del endometrio, obteniéndose por medio de -- una biopsia que existen numerosas mitosis en el estroma, al 8avo -- día se siguen notando mitosis en los estromas, expandiéndose el -- período de menstruación de un ciclo a otro próximo. Al alargarse el tratamiento se observó que en el ciclo medio hay un decrecimiento general en la actividad secretoria con atrofia glandular total, -- así como aparición y aumento de tamaño de las vacuolas citoplásmicas. La mayoría de las glándulas y el estroma presentaron dilatación y venas sinuosas; el estroma presenta además eventualmente -- flujo de sangrado y caídas de leucocitos y filtrados durante el -- período de menstruación (21).

Wallach y colaboradores en 1970 al estudiar el medicamento compuesto por ADP y EE, reportaron que no se presentaron casos de carcinomas y invasivos, solamente un caso de área focal - carcinomoso in situ en la presencia de displasia en la cornificación de la muestra histológica. Además el 55.49% de pacientes quedan fuera del experimento después de la tercera inyección, debido a la no aceptación del método y al continuo e irregular flujo de - sangre. Mujeres que recibieron hasta la 12ava inyección muestran aumento mínimo de 1.2 libras. Al ser descontinuado el tratamiento, las mujeres que concibieron después de cesado éste, no reportaron efectos adversos en los recién nacidos (24).

En febrero de 1972, reportaron a un grupo de 30-- mujeres que se les administró ADP y EE, encontrándose modificacio-

nes en el patrón menstrual, en un 93.3% se presentó un aumento en los días de sangrado, además se observaron síntomas desagradables como cefalea, mastalgia, nerviosismo, náuseas y otros efectos. En este estudio llegaron a la conclusión de que los efectos adversos de estos anticonceptivos de depósito fueron muy acentuadas sobre todo la amenorrea, el sangrado transhormonal y la esterilidad posterior. Al emplear el ADP se encontró que producía alteraciones menstruales y presentaba diversos y numerosos efectos colaterales (23).

También en 1972, los señores Kurihara, Takadoro y Ogawa, al escuchar acerca de la acción progestacional del ADP, realizaron un estudio acerca de la acción de este fármaco, encontraron que el ADP vuelve irregular el ciclo estral de las ratas en menor cantidad que cuando se administraba acompañado de EE. Los efectos en el útero muestran una larga hidropesía, traslucencia y transparencia en el contenido acuoso cuando se administraba la mezcla de ADP y EE, las largas hidropesias que sufre el útero llegan a derivar las paredes y células endometriales, acusando con ello la hipertrofia del útero, sin embargo esto se le atribuyen al EE. A su vez se ve una inhibición en la ganancia de peso, acompañada de depilación y emaciación al administrar una dosis alta. Se observó también una degeneración grasosa del hígado en ratas machos. Reportaron además que Lerner y colaboradores dicen que el ADP no inhibe para nada la transportación y la anidación en el tracto reproductor, sin embargo la muralla en el útero debido a la gran hidropesía producida por la mezcla de estos dos fármacos lo hacen dudar, este experimento también demostró que el EE ejerce una gran acción inhibitoria en el ovario evitando por lo mismo la ovulación. Esto induce a creer que el EE sostiene en general una alimentación negativa debido a la supresión de la hormona FSH. El trabajo del progestágeno en este caso el ADP, es el de bloquear la ovulación debido a la inhibición de la secreción de la LH. Después de administrar una inyección de la mezcla de ADP y de EE, se vió que las gonadas, veciculas seminales y próstata presentaban una atrofia y una inhi-

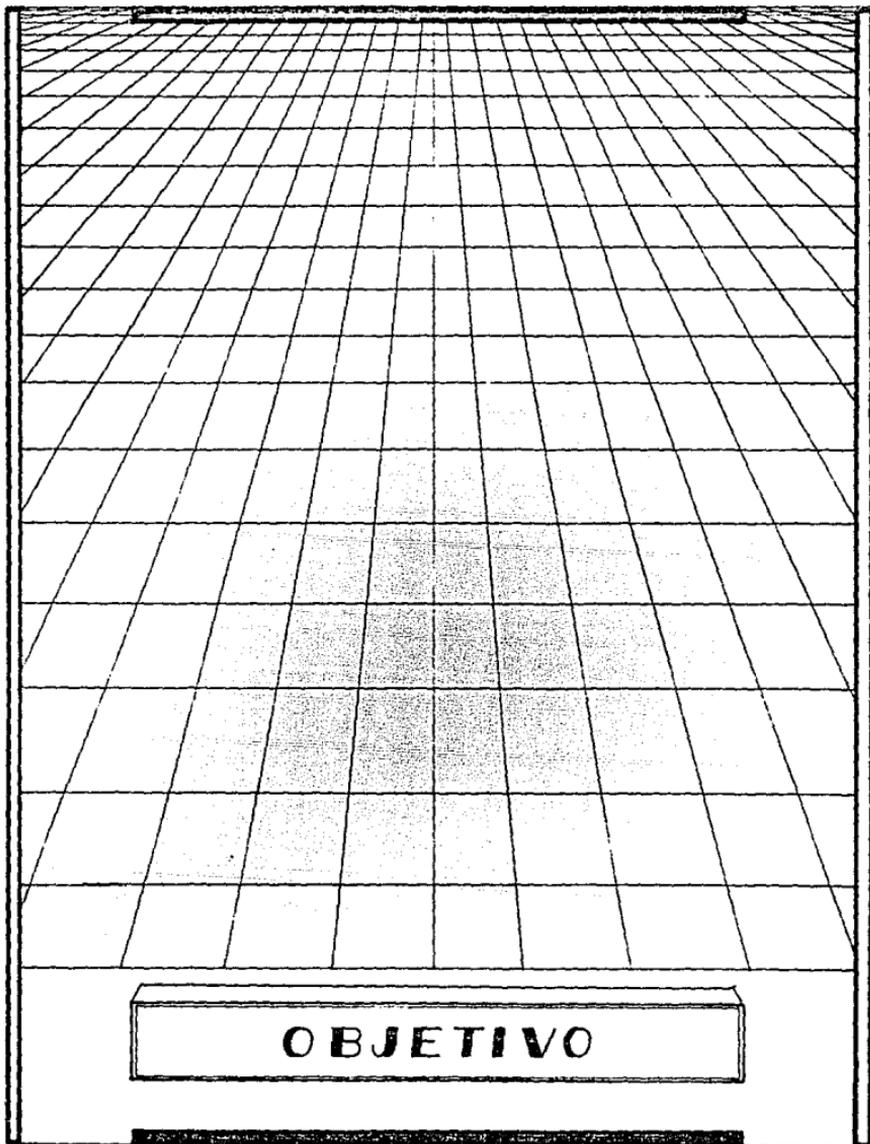
bición de la espermatogénesis, en otros casos este medicamento --- ejerce una acción antrogénica y anabólica en ratas machos. También debido a la inhibición, esta mezcla produce histológicamente supresión en la zona facicular y en la zona reticular de la corteza suprarrenal y acumulación involuntaria en el timo (10).

En 1979, se pública un reporte acerca del efecto de la mezcla estudiada en las enzimas de cabras y conejos, viéndose que solamente existen cambios significativos en la actividad de la enzima aldolasa, ésta se incrementa y puede ser debido al efecto que tienen en la glándula suprarrenal o bien a desarreglos hepáticos (7).

En 1981, Kadar y colaboradores reportaron que la mezcla formada por el ADP y EE provocaron marcados disturbios del suero triptofánico, lo mismo que sucede cuando es administrado un anticonceptivo oral (6).

Al reportar la fracción urinaria de los 17-oxoesteroides en las ratas, se mostró que la mezcla de ADP y EE provoca una reducción en las fracciones de dihidropiandrosterona, androsterona y eticolanona, aunque esta reducción es menor que la provocada por el acetato de la medroxiprogesterona (5).

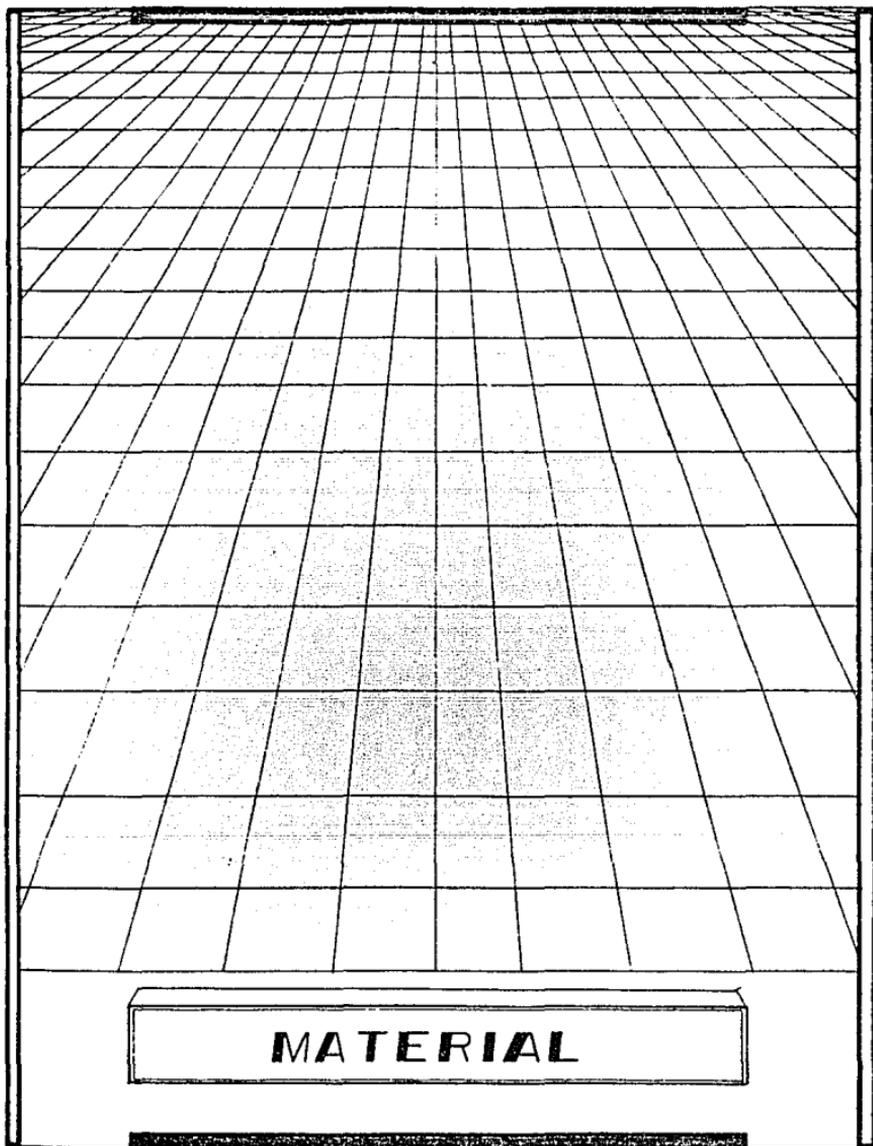
En los Estados Unidos de América esta combinación fue ensayada bajo la marca de Deladroxate, más éste no fué comercializado jamás por que causaba tumores de mama en perros beagle y -- por que no fué posible determinar totalmente la distribución y excreción del componente estrogénico en el cuerpo. Se tiene también que este tipo de anticonceptivo (formado por un estrogéno y un progestágeno) se venden en China y en México, donde unas 300,000 mujeres los están utilizando (18).



OBJETIVO

O B J E T I V O

Comprobar y comparar en ratas Wistar, hembras adultas y fértiles con una y cinco dosis terapéuticas, los efectos adversos producidos por dos contraceptivos: PERLUTAL (Acetofénido de la 16 alfa, 17 alfa dihidroxiprogesterona y - enantato de estradiol) y NORISTERAT (Enantato de Noretisterona), en los siguientes órganos: Glándulas mamarias, Glándulas suprarrenales, hígado, útero y ovarios.



MATERIAL

M A T E R I A L

BIOLOGICO:

40 ratas Wistar (30 hembras y 10 machos)

REACTIVOS:

Mezcla alcohol-éter

Colorante Giemsa

Agua destilada

Alcohol de 60⁰

Alcohol de 70⁰

Alcohol de 69⁰

Alcohol de 80⁰

Alcohol de 90⁰

Alcohol de 96⁰

Alcohol absoluto

Benceno

Parafina

Xilol

Hematoxilina (Harris)

Alcohol ácido

Eosina

Resina sintética

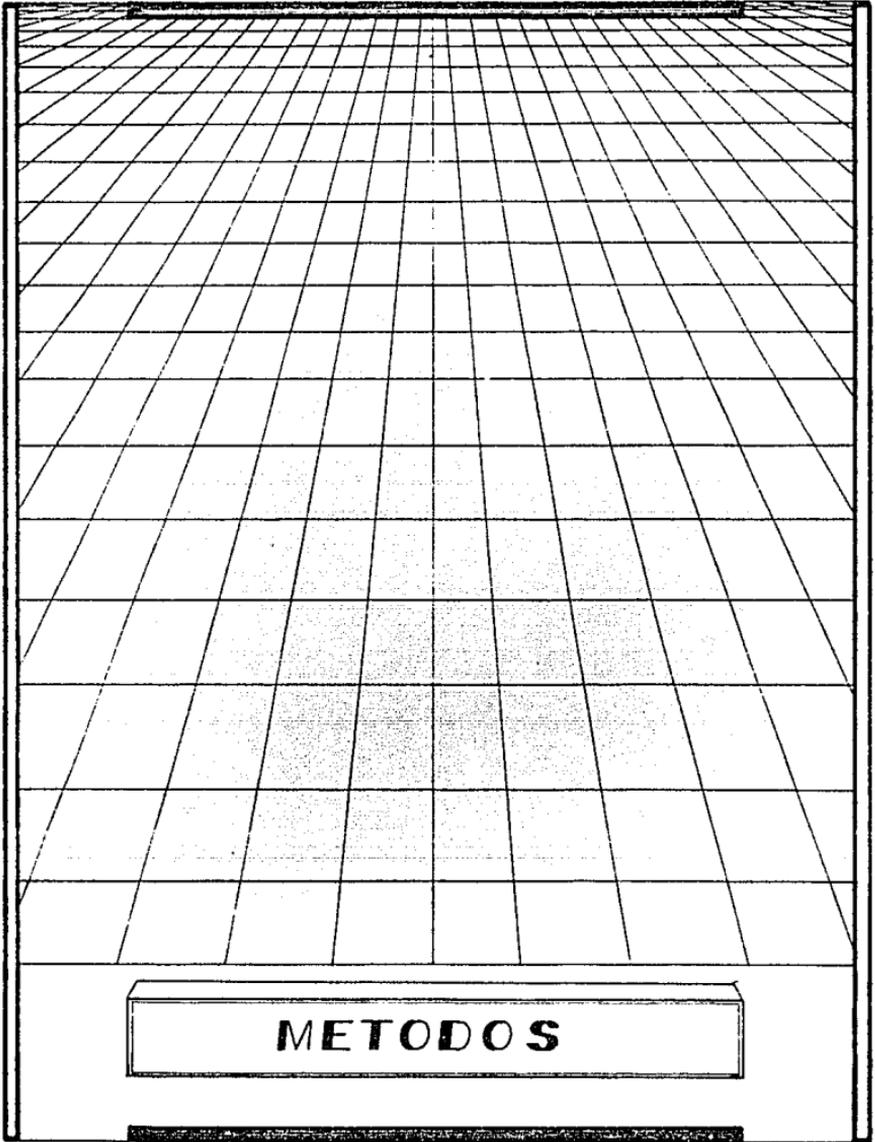
MEDICAMENTOS:

Perlutal (Solución inyectable con 150 mg de Acetofénido de la 16 alfa, 17 alfa dihidroxiprogesterona y 10 mg de Enantato de Estradiol; Laboratorios Promeco de México S.A de C.V.)

Noristerat (Solución inyectable con 200 mg de Enantato de Noretisterona. Laboratorios Schering Mexicana S.A).

EQUIPO:

Microscopio Optico Binocular LSC - BLW (ROSSBACH _ KYOWA).
Histokinette Automático con 10 vasos Tipo E- 7326 (BRITISH AMERICA
OPTICAL), además con dos recipientes de fusión de parafina WAX BAT
Tipo E-7606.
Microtomo Rotatorio Manual Modelo 826.
Baño de flotación Tipo 26103 (CHICAGO SURGICAL & ELECTRICAL).
Platina a 45 grados No. 26020 (CLINICAL SCIENTIFIC EQUIPMENT).



METODOS

M E T O D O S

A un lote de 30 ratas Wistar, hembras, adultas, fértiles, de un peso aproximado a 250 g, se les distribuyó en forma aleatoria en tres lotes (A,B,C), cada lote fué dividido en sublotes como lo muestra la tabla No. 1

TABLA No. 1

LOTE	SUBLOTE	No. DE RATAS
A	A ₁	5
	A ₂	5
B	B ₁	5
	B ₂	5
C	C ₁	5
	C ₂	5

TOTAL 30

A todos los animales se les tomaron muestras vaginales durante dos semanas para posteriormente poder comparar la variación del ciclo estral, las fases observadas fueron:

- 1) FASE DIESTRO: en esta fase se observaron leucocitos y pocas células epiteliales, los órganos genitales están anémicos, (14).
- 2) FASE PROESTRO: muestra grandes células epiteliales y eosinófilas.
- 3) FASE ESTRO: se observan células cornificadas no nucleadas y eosinófilas, encontrándose además células en forma de helecho, (14).

4) FASE METAESTRO: se muestran células cornificadas y leucocitos(14) vease figura No. 1

Después de esto a los sublotos A₁ y B₁ se les administró cinco dosis terapéuticas, cada 7 días de los anticonceptivos Perlutal y Noristerat respectivamente. A los sublotos A₂ y B₂ se les administró una dosis terapéutica de los medicamentos anteriores. A los sublotos C₁ y C₂ se les administró una y cinco dosis de aceite de ricino respectivamente, tomándose éstos como grupos controles, como lo muestra la tabla No. 2.

TABLA No. 2

SUBLOTOS	MEDICAMENTO	No. DOSIS
A ₁	Perlutal	5
B ₁	Noristerat	5
A ₂	Perlutal	1
B ₂	Noristerat	1
C ₁	Aceite de Ricino	5
C ₂		1

Cada dosis de Perlutal fué de 0.525/ 250 g y la de Noristerat fué de 0.714 mg/ 250 g.

Se pesaron durante el tratamiento y se tomaron muestras vaginales para la diferenciación de las células epiteliales -- diariamente.

Después que se les administró cinco dosis de anticonceptivo a las ratas de los sublotos A₁, B₁ y C₁ se les sacrificó 7 días después para observar alteraciones macroscópicas de las glándu las mamarias, glándulas adrenales, hígado, útero y ovarios. De los-

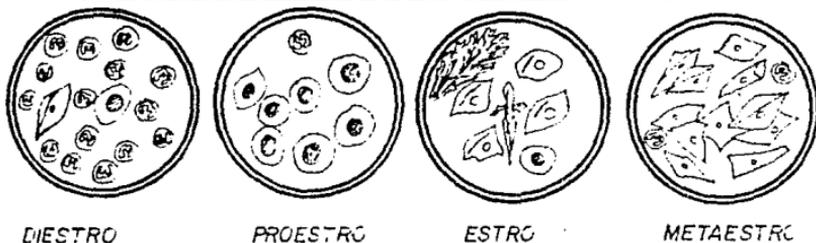
úteros y los ovarios se tomo su peso. La estadística aplicada para este estudio fue un análisis de Varianza (ver Anexo No. 1).

Para determinar las alteraciones microscópicas de los órganos a estudiar se llevo a cabo un método histoquímico (Tinsión-de Hematoxilina-Eosina, ver anexo No. 2).

A los sublotos A₂, B₂ y C₂ después de aplicarles una-dosis se les hicieron las mismas pruebas que a los sublotos anteriores.

FIGURA No. 1

FASES QUE SE OBSERVARON AL MICROSCOPIO



Esta figura nos indica las células que se observaron al microscopio para verificar las fases del ciclo estral en las ratas.

R E S U L T A D O S

EFFECTOS SOBRE LAS GLANDULAS MAMARIAS:

Con la administración de una y cinco dosis en NORISTERAT no se observaron daños macroscópicos, ya que tanto los animales tratados como los animales control presentaban un color rosado y tamaño pequeño. Lo mismo sucede cuando se administró PERLUTAL en una y cinco dosis.

EFFECTOS SOBRE LAS GLANDULAS SUPRARRENALES:

Tanto con la administración de PERLUTAL y NORISTERAT con una y cinco dosis se observó macroscópicamente que estas glándulas mostrarán un tamaño más grande a los del grupo control; microscópicamente se observó que las células y glándulas de la zona fascicular y de la zona glomerular estaban dilatadas por contenido graso mientras que la zona reticular estaba congestionada.

EFFECTOS SOBRE EL HIGADO:

En este órgano tanto con NORISTERAT como con PERLUTAL con una y con cinco dosis, macroscópicamente no mostrarán daños; microscópicamente se observaron hemorrágicos, congestivos y con necrosis focal en todos los casos incluyendo los controles.

EFFECTOS SOBRE LOS UTEROS

Macroscópicamente los úteros con la administración de NORISTERAT presentaron vascularización y color rojizo, tanto con una como cinco dosis comparados con los controles, los cuales tenían un color rosado. Microscópicamente los úteros mostraron las mismas características que los controles, es decir congestivo, epitelio glándular cilíndrico y escaso desarrollo glándular cúbico.

Con la administración de PERLUTAL, macroscópicamente se observó que existió retención de líquido, siendo éste desde-

apariencia traslucida hasta purulenta según haya sido el número de dosis administradas. Su peso varía dependiendo del contenido ocuoso y éste es mayor cuando se administraron cinco dosis. Microscópicamente se observaron glándulas dilatadas y existencia de contenido proteíco con una dosis, mientras que con cinco dosis se llegaron a ver glándulas quísticas.

EFFECTOS SOBRE LOS OVARIOS:

Los ovarios con la administración de NORISTERAT - tanto con una como con cinco dosis mostraron un color rojizo y apariencia de mora, mientras que los controles se vieron rosados. Se observó un aumento en el peso cuando se administró una y cinco -- dosis, siendo mayor el aumento cuando se administró una dosis. Microscópicamente mostraron las mismas características que los con--troles, es decir, folículos en crecimiento llendo a la maduración y presencia de cuerpos lúteos.

Con la administración de PERLUTAL, tanto con una - como con cinco dosis presentaron un color rojizo y apariencia de - mora macroscópicamente, mientras que los controles los tenían de - color rosado. El peso de los ovarios fué más alto que el de los -- animales control, pero sobre todo se administró una dosis. Microscópicamente se les vieron un pigmento amarillento, folículos atré--sicos en crecimiento y congestivos siendo esta más notorio con cin--co dosis. (Los resultados de úteros y ovarios se encuentran resumi--dos en los cuadros Nos. 6, 7, 8, 9).

EFFECTOS SOBRE EL CICLO ESTRAL:

Con la administración de NORISTERAT se mostró un - cambio en el ciclo estral después de la administración de la cuar--ta dosis, éste mantiene a la rata en la fase estro y éste continua hasta el final del tratamiento, (ver gráficas 1 y 2).

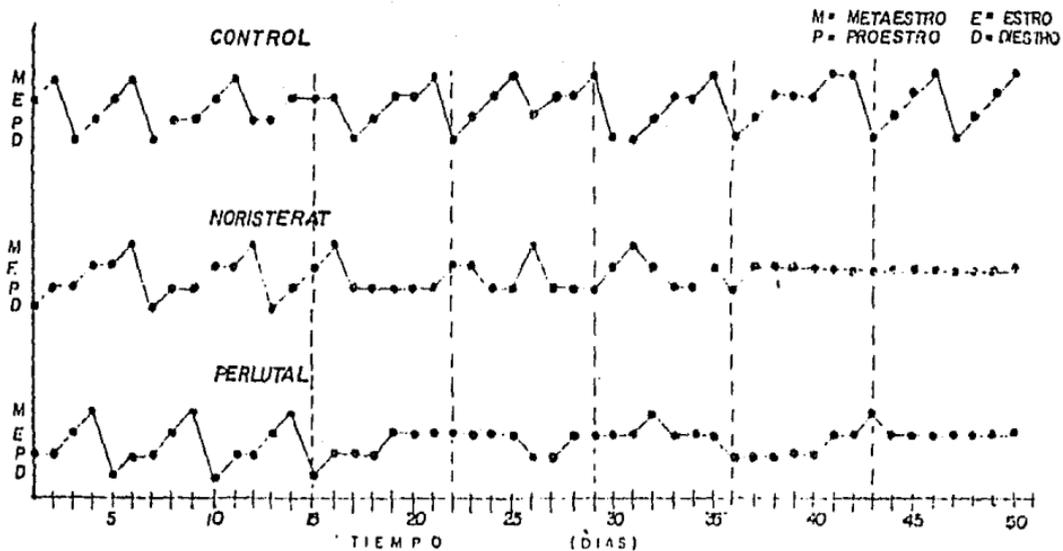
El PERLUTAL mostró que los cambios en el ciclo es--tral empiezan después de la primera inyección y también mantiene - a la rata en la fase estro durante todo el tratamiento, (ver grá--

ficas 1 y 2).

ESTADISTICOS:

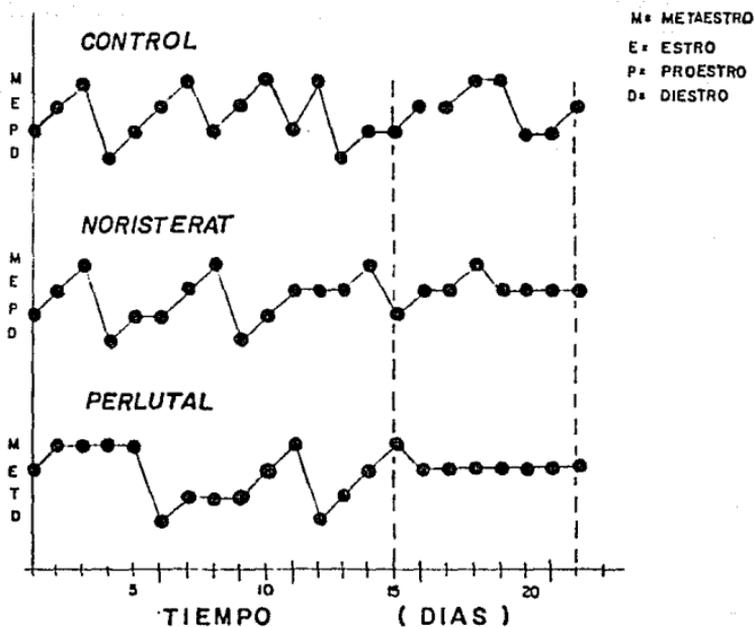
Los pesos de los úteros se muestran en el cuadro -
No. 1 y el de los ovarios en el cuadro No. 4.

G R A F I C A No. 1



Esta gráfica muestra los cambios en el ciclo estral de las ratas despues de administrarles cinco dosis de Noristerat y Perlutal.

GRAFICA No. 2



Esta gráfica muestra los cambios en el ciclo estral despues de administrar una dosis de Noristerat y Perlutal.

En el cuadro No. 1 se muestra que las medias ---- aritméticas de cada subgrupo son diferentes, por lo que se procedió al análisis de varianza, como se señala en el cuadro No. 2; en éste se probó si la siguiente hipótesis se acepta o se rechaza:

Cuando $H_0 = \mu_{A_1} = \mu_{A_2} = \mu_{B_1} = \mu_{B_2} = \mu_{C_1} = \mu_{C_2}$ se acepta

Si H_1 es diferente a H_0 se rechaza con $\alpha = 5\%$

de tablas (1) tenemos que el valor de Fisher es de 2.62, por lo tanto tenemos que $3.304 > 2.62$ por lo que la hipótesis se rechaza, esto quiere decir que los pesos promedio de los úteros de cada subgrupo son diferentes; posteriormente se realizaron las pruebas de Duncan y de Tukey para comparar las medias aritméticas de éstos obteniendo la media aritmética que causó el rechazo de la hipótesis, como se indica en el cuadro No. 3. Este cuadro nos indica que es la media del anticonceptivo PERLUTAL con cinco dosis administradas la que causó el rechazo de la hipótesis, ya que comparando su media con las medias de los otros subgrupos va de significativa altamente significativa, tanto en la prueba de Duncan como en la de Dukey, queriendo decir esto que el promedio del peso de este subgrupo es mucho mayor que el de los otros subgrupos y esto hace que su diferencia con ellos sea mayor al valor estudentizado ---- (3.456 para Duncan y 4.421 para Dukey).

CUADRO No. 1

PESOS DE LOS UTEROS EN GRAMOS DESPUES DE LA
ADMINISTRACION DE PERLUTAL Y NORISTERAT

No. de ANIMAL	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	C ₁	C ₂
1	1.1	1.1	0.6	0.8	0.2	0.5
2	4.5	1.1	0.6	0.6	0.5	0.9
3	15.2	1.5	0.8	1.0	0.9	0.2
4	6.0	1.7	0.9	0.4	0.5	0.3
5	6.7	4.8	0.5	1.1	0.3	0.5
\bar{X}	6.7	2.04	0.68	0.78	0.48	0.48
Sx	2.33	0.69	0.07	0.12	0.12	0.12

Este cuadro muestra los pesos, la media aritmética y el error estandar de los diferentes tratamientos.

- A₁ = Perlutal con cinco dosis administradas
 A₂ = Noristerat con cinco dosis administradas
 B₁ = Perlutal con una dosis administrada
 B₂ = Noristerat con una dosis administrada
 C₁ = Grupo control con cinco dosis de aceite de ricino
 C₂ = Grupo control con una dosis de aceite de ricino
 \bar{X} = Media aritmética
 Sx = Error estandar o error tipo de la media

CUADRO No. 2

ANALISIS DE VARIANZA PARA LOS PESOS DE LOS UTEROS
DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE PERLUTAL Y NORIS-
TERAT.

Fuente de Variación	g.l	S.C	C.M	" F "
Tratamientos	5	106.975	21.395	3.304
Error	24	161.897	6.745	
TOTAL	29	268.872		

Este cuadro nos indica los valores obtenidos en el análisis de variancia, así como el valor de Fisher calculado.

g. l = grados de libertad

S. C = suma de cuadrados de los tratamientos

C.M = cuadrados medios

" F " = valor de Fisher calculado.

CUADRO No. 3

SIGNIFICANCIA ENTRE LAS MEDIAS PARA EL
ANALISIS DE VARIANZA PARA LOS PESOS DE
LOS UTEROS DESPUES DE LA ADMINISTRACION
DE PERLUTAL Y NORISTERAT.

DIFERENCIAS ENTRE MEDIAS		SIGNIFICANCIA	
		DUNCAN	TUKEY
A ₁ - A ₂	6.7 - 2.04 = 4.66	n.s	+
A ₁ - B ₁	6.7 - 0.68 = 6.02	++	++
A ₁ - B ₂	6.7 - 0.78 = 5.92	++	++
A ₁ - C	6.7 - 0.48 = 6.22	++	++
A ₂ - B ₁	2.04 - 0.68 = 1.36	n.s	n.s
A ₂ - B ₂	2.04 - 0.78 = 1.26	n.s	n.s
A ₂ - C	2.04 - 0.48 = 1.56	n.s	n.s
B ₁ - B ₂	0.68 - 0.78 = -0.10	n.s	n.s
B ₁ - C	0.68 - 0.48 = 0.20	n.s	n.s
B ₂ - C	0.78 - 0.48 = 0.30	n.s	n.s

Este cuadro muestra la significancia entre las medias de los subgrupos respecto al valor estudentizado de las pruebas de Duncan y Tukey.

- A₁ = Perlutal con cinco dosis administradas
A₂ = Perlutal con una dosis administrada
B₁ = Noristerat con cinco dosis administradas
B₂ = Noristerat con una dosis administrada
C = Grupo Control
+ = Diferencia Significativa
++ = Diferencia Altamente Significativa
n.s = Diferencia No Significativa.

El cuadro No. 4 muestra los pesos de los ovarios y las medias aritméticas de éstos, observándose que existen diferencias entre ellas y por lo mismo se les realizó el análisis de Varianza al igual que los úteros, como lo muestra el cuadro No. 5.

En este análisis de Varianza se probó la siguiente hipótesis:

Cuando $H_0 = \mu_{A_1} = \mu_{A_2} = \mu_{B_1} = \mu_{B_2} = \mu_{C_1} = \mu_{C_2}$ se acepta

Si H_1 es diferente de H_0 se rechaza con $\alpha = 5\%$

Tomando el valor de Fisher de tablas (1) este es de 2.62; si comparamos éste con el valor calculado tenemos que $0.2735 \ll 2.62$ por lo mismo tenemos que las medias de los diferentes subgrupos son iguales y que la hipótesis se acepta; esto quiere decir que no existen efectos adversos en el peso de los ovarios.

CUADRO No. 4

PESOS DE OVARIOS EN GRAMOS DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE PERLUTAL Y NORISTERAT.

No. DE ANIMAL	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	C ₁	C ₂
1	0.3	0.4	0.1	0.3	0.1	0.1
2	0.1	0.3	0.25	0.2	0.1	0.1
3	0.5	0.5	0.3	0.3	0.1	0.1
4	0.1	0.3	0.1	0.2	0.1	0.1
5	0.25	0.4	0.1	0.4	0.1	0.1
\bar{X}	0.25	0.38	0.17	0.28	0.1	0.1
$S\bar{X}$	0.08	0.003	0.004	0.003	0.04	0.04

Este cuadro muestra los pesos de los ovarios de los diferentes tratamientos, la media aritmética y el error estandar.

A₁ = Perlutal con cinco dosis administradas

A₂ = Perlutal con una dosis administrada

B₁ = Noristerat con cinco dosis administradas

B₂ = Noristerat con una dosis administrada

C₁ = Grupo control con cinco dosis de aceite de ricino

C₂ = Grupo control con una dosis de aceite de ricino

\bar{X} = Media aritmética

$S\bar{X}$ = Error estandar o error tipo de la media

CUADRO No. 5

ANALISIS DE VARIANZA PARA LOS PESOS DE LOS OVARIOS
DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE PERLUTAL Y NORISTE
RAT.

Fuente de Variación	g.1	S.C	C.M	" F "
Tratamientos	5	0.0275	0.0055	0.2735
Error	24	0.4825	0.0201	
TOTAL	29	0.5100		

Este cuadro nos indica los valores obtenidos en el análisis de varianza, así como el valor de Fisher calculado.

g. 1 = grados de libertad

S.C = suma de cuadrados de los tratamientos

C.M = cuadrados medios

" F " = valor de Fisher calculado

CUADRO No. 6

RESULTADOS MACROSCOPICOS Y MICROSCOPICOS
OBTENIDOS CON NORISTERAT EN UTEROS.

DOSIS	PESO PROMEDIO	MACROSCOPICOS	MICROSCOPICOS
CONTROL 1 y 5 dosis	$\bar{X} = 0.48$ $S\bar{x} = 0.12$	- Acumulo de grasa - Color rosado	Congestivo. Epitelio --- glándular cilíndrico, -- con polimorfonucleares y linfocitos infiltrados, - escaso desarrollo glán-- dular cúbico.
Tratamien to de 1 dosis	$\bar{X} = 0.78$ $S\bar{x} = 0.12$	- Rojizos - Vascularizados	Congestivos. Epitelio -- gladular cilíndrico con- polimorfonucleares y lin focitos infiltrados, es- caso desarrollo glandular
Tratami- ento de 5 dosis	$\bar{X} = 0.68$ $S\bar{x} = 0.07$	- Rojizos - Vascularizados	Congestivos. Epitelio -- glandular cilíndrico con polimorfonucleares y lin focitos infiltrados, es- caso desarrollo glandular

Este cuadro muestra los resultados obtenidos para
úteros después de administrar una y cinco
dosis de Noristerat.

CUADRO No. 7

RESULTADOS MACROSCOPICOS Y MICROSCOPICOS
OBTENIDOS CON NORISTERAT EN OVARIOS

DOSIS	PESO PROMEDIO	MACROSCOPICOS	MICROSCOPICOS
CONTROL 1 y 5 dosis	$\bar{x} = 0.1$ $S\bar{x} = 0.04$	- Grasa en abundancia - Color rosado.	Lleno de cuerpos lúteos folículos en crecimiento llendo a la maduración.
Tratamiento de 1 dosis	$\bar{x} = 0.28$ $S\bar{x} = 0.003$	- Rojizos - Acumulo de grasa.	Lleno de cuerpos lúteos folículos en crecimiento llendo a la maduración.
Tratamiento de 5 dosis	$\bar{x} = 0.17$ $S\bar{x} = 0.004$	- Rojizos - Acumulo de grasa.	Lleno de cuerpos lúteos folículos en crecimiento llendo a la maduración.

Este cuadro muestra los resultados obtenidos para ovarios después de la administración de Noristerat.

CUADRO No. 8

RESULTADOS MACROSCOPICOS Y MICROSCOPICOS
OBTENIDOS CON PERLUTAL EN UTEROS.

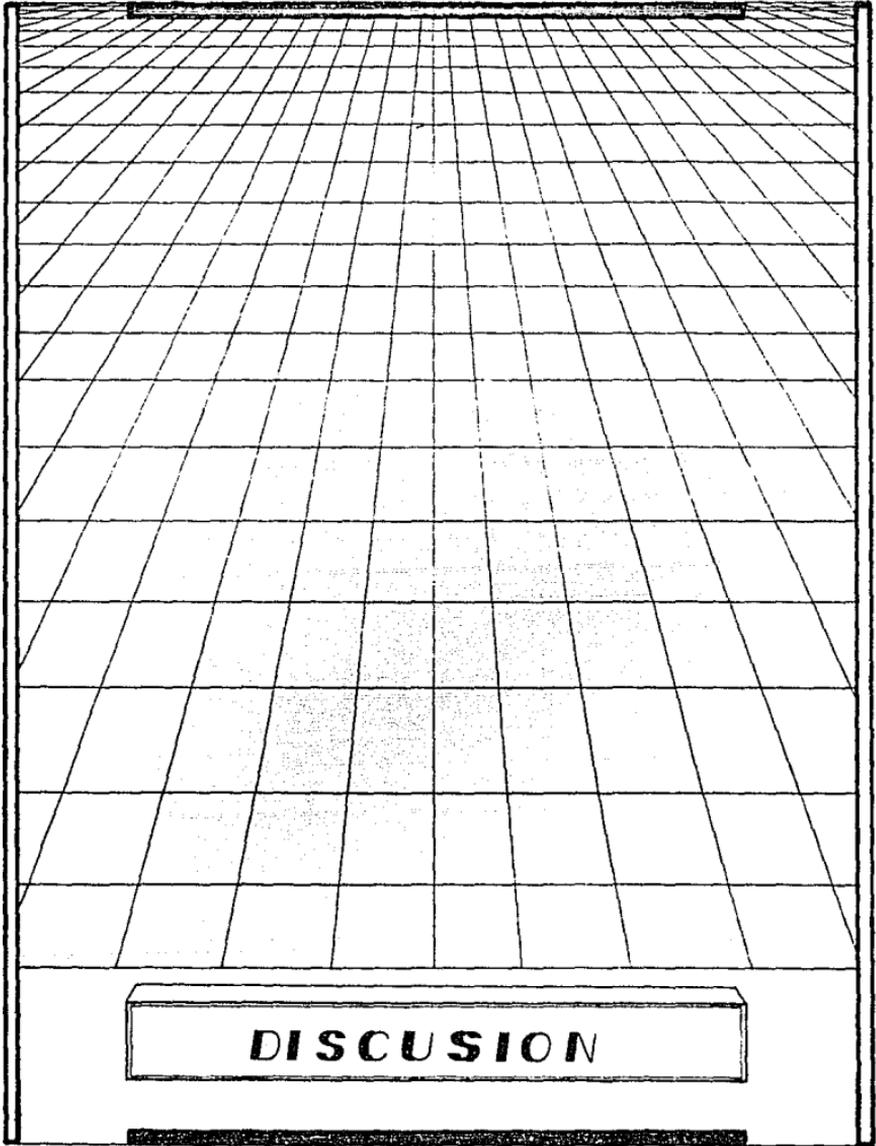
DOSIS	PESO PROMEDIO	MACROSCOPICOS	MICROSCOPICOS
CONTROL 1 y 5 dosis	$\bar{X} = 0.48$ $S\bar{X} = 0.12$	- rodeados de grasa. - Color rosado.	Congestivos. Epitelio glandular cilindrico Epitelio con polimorfonucleares y linfocitos infiltrados, -- escaso desarrollo -- glandular cúbico.
Tratamiento con 1 dosis	$\bar{X} = 2.04$ $S\bar{X} = 0.69$	- Retención de líquidos. - Vascularización. - Rojizos.	Glándulas dilatadas Epitelio glandular - alto con infiltración de polimorfonucleares y linfocitos existiendo contenido proteico granular.
Tratamiento con 5 dosis	$\bar{X} = 6.7$ $S\bar{X} = 2.33$	- Retención de líquido en mayor proporción - En algunos presencia de pus. - Rojizos.	Glándulas dilatadas- Epitelio glandular - alto con infiltración de polimorfonucleares y linfocitos existiendo contenido proteico granular, además de - glándulas quísticas.

CUADRO No. 9

RESULTADOS MACROSCOPICOS Y MICROSCOPICOS
OBTENIDOS CON PERLUTAL EN OVARIOS.

DOSIS	PESO PROMEDIO	MACROSCOPICOS	MICROSCOPICOS
CONTROL 1 y 5 dosis	$\bar{X} = 0.1$ $S\bar{X} = 0.4$	- Color rojizo - Acúmulo de grasa	Lleno de cuerpos lúteos, folículos en crecimiento llenando a la maduración.
Tratamiento con dosis	$\bar{X} = 0.38$ $S\bar{X} = 0.003$	- Rojizos. - Superficie nodular rodeada de grasa.	Pigmento amarillento en folículos primarios folículos en crecimiento de tipo atrésico, congestión.
Tratamiento con 5 dosis	$\bar{X} = 0.25$ $S\bar{X} = 0.08$	- Rojizos - Acumulo de grasa.	Pigmento amarillento en folículos primarios existencia de glándula intersticial, folículos atrésicos en crecimiento, restos de cuerpos albicans, posibles folículos luteinizantes, congestivos.

Este cuadro muestra los resultados obtenidos después de la administración de Perlutal en ovarios.



DISCUSSION

D I S C U S I O N

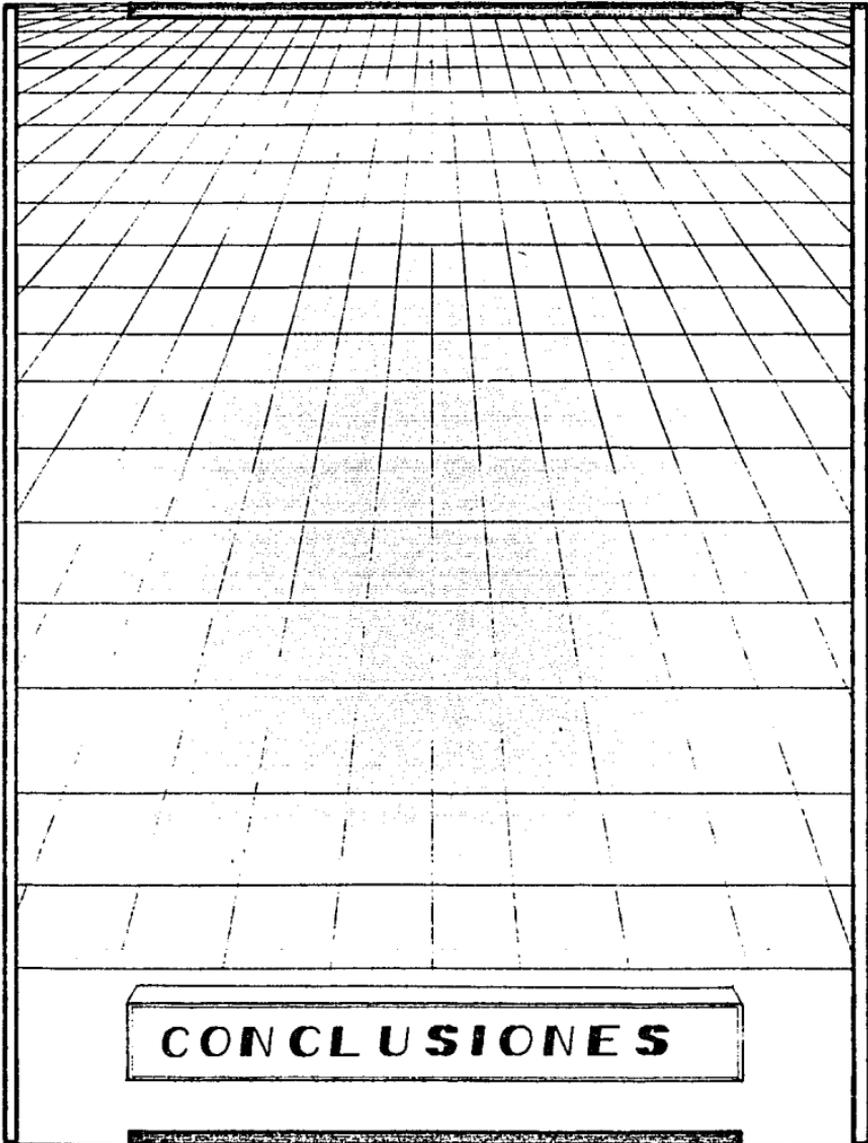
La dilatación de las glándulas suprarrenales se -- puede deber a la administración de los esteroides y al posible --- acumulo de agentes esteroides naturales, ya que se sabe que las - glándulas suprarrenales secretan agentes esteroides como son la -- aldosterona, cortisol y estrogénos (3).

Los resultados en el hígado no se pueden atribuir- a los agentes contraceptivos ya que todos los animales tratados y- controles muestran las mismas características.

La hidropesía que muestran los úteros con el anti- conceptivo PERLUTAL puede deberse como lo mencionan los autores -- Takadoro, Kurihara y Ogawa a la presencia del enantato de estradiol en este medicamento ya que unido al acetofénido de la 16 alfa, 17- alfa dihidroxiprogesterona su acción sufre un sinergismo (10), --- además esto no se observó con el NORISTERAT. A su vez podemos de-- cir que la hidropesia puede causar la atrofia del útero.

La desaparición del cuerpo lúteo después de la -- administración del anticonceptivo PERLUTAL y la presencia de folí- culos atrésicos confirman la atrofia de los ovarios y esto se debe- a que existe una inhibición de la LH (10).

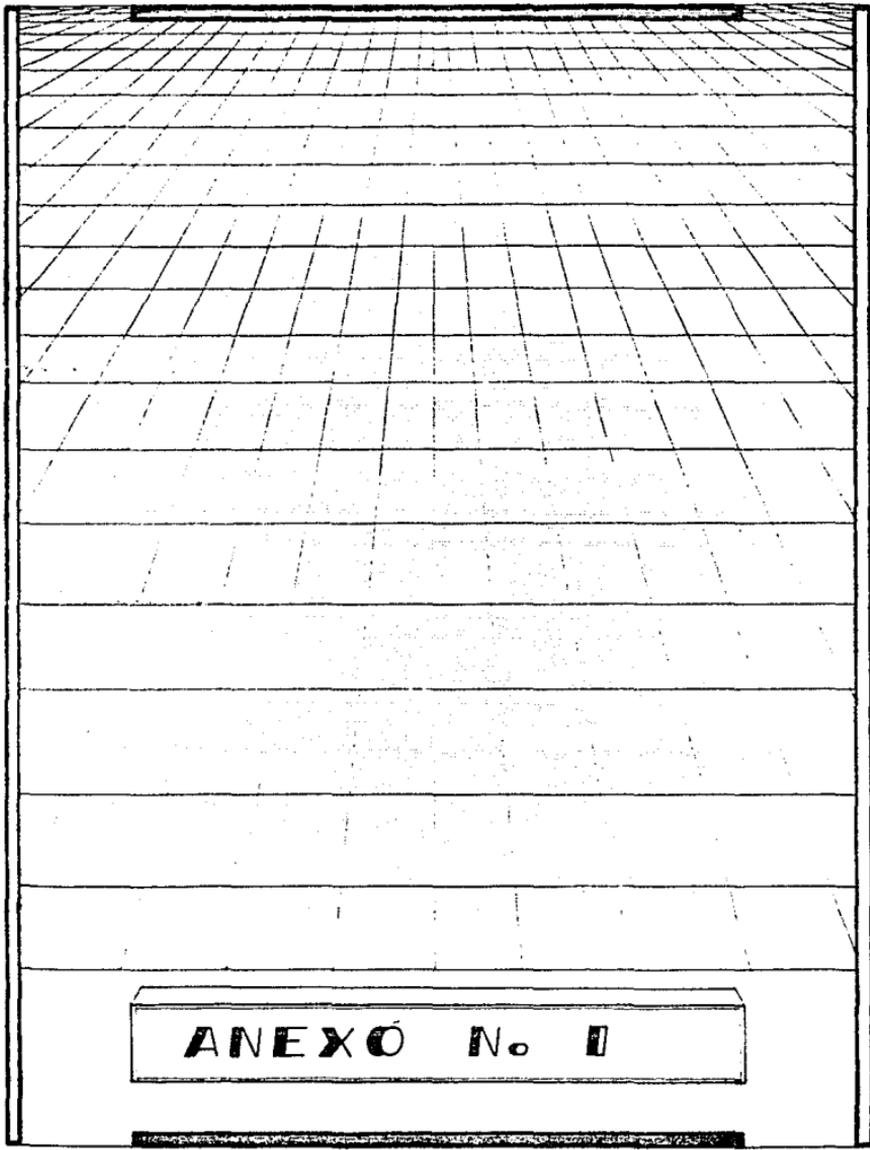
Se puede decir que el cambio en el ciclo estral -- tanto con el anticonceptivo PERLUTAL como con el NORISTERAT puede- tener cierta influencia en los daños que se observaron tanto ma--- croscópicamente como microscópicamente, ya que con el perlutal se- obtiene y mantiene por más tiempo la fase estro; mientras que con- el noristerat la fase estro se observó después de la cuarta admi-- nistración y coincidentemente los órganos genitales de estas ratas tuvieron menos daños.



CONCLUSIONES

C O N C L U S I O N E S

- 1) En glándulas mamarias tanto macroscópicamente como microscópicamente no se observaron daños con ninguno de los dos contraceptivos utilizados.
- 2) En glándulas suprarrenales macroscópicamente no se vió daños con ninguno de los dos medicamentos; microscópicamente se presentarán alteraciones con los dos medicamentos.
- 3) En hígado macroscópicamente no se advirtió ningún daño; microscópicamente debido a que se observaron alteraciones en todas las dosis, con los dos contraceptivos y en los controles no se puede atribuir al tratamiento este efecto.
- 4) Para el anticonceptivo Perlutal con una dosis y con cinco dosis en útero provoca hidropesia y atrofia de este órgano.
- 5) El Noristerat produce acumulo de grasa en útero, así como vascularización tanto con una como con cinco dosis.
- 6) En ovarios el contraceptivo Perlutal produce a mayor dosis mayor daño; por lo que se puede decir que a mayor dosis mayor daño.
- 7) Con Noristerat los ovarios no sufren grandes cambios.
- 8) El Perlutal produce más efectos adversos que el Noristerat debido tal vez a que inicia y prolonga la fase estrogénica durante más tiempo.



ANEXO No. I

A N E X O No. 1

DETERMINACIONES ESTADISTICAS

ANALISIS DE VARIANZA.- es una técnica mediante la cual la variación total presente en un conjunto de datos se distribuye en varias componentes. Con cada una de estas componentes está asociada una fuente específica de variación de modo que en el análisis es posible averiguar la magnitud de las contribuciones de cada una de estas fuentes de variación total (15).

Se usa Análisis de Varianza con el fin de estimar y probar hipótesis acerca de las medias de las poblaciones (se prueba que las medias de los tratamientos son iguales como hipótesis nula o H_0 ; como hipótesis alterna H_1 , que no es cierta H_0), es un diseño completamente aleatorio.

Para comprobar un Análisis de Varianza, se presenta a continuación un ejemplo práctico tomando el caso del peso de los úteros de rata que se les administró dos anticonceptivos (Perlutal y Noristerat) en diferentes números de dosis, además de tener grupos control, los cuales presentaron diferencias significativas (ver cuadro No. 1) y tomando la Metodología de (15).

Si $H_0 = \mu_{A_1} = \mu_{A_2} = \mu_{B_1} = \mu_{B_2} = \mu_{C_1} = \mu_{C_2}$ Se acepta

Si H_1 es diferente a H_0 Se rechaza

con $\alpha = 5\%$

No. de Animal	A ₁	A ₂	B ₁	B ₂	C ₁	C ₂
1	1.1	1.1	0.6	0.8	0.2	0.5
2	4.5	1.1	0.6	0.6	0.5	0.9
3	15.2	1.5	0.8	1.0	0.9	0.2
4	6.0	1.7	0.9	0.4	0.5	0.3
5	6.7	4.8	0.5	1.1	0.3	0.5
X_i	33.5	10.2	3.4	3.9	2.4	2.4
\bar{X}_i	6.7	2.04	0.68	0.78	0.48	0.48

i = 1

j = 1

r

= 55.8 = G

= 1.86 = \bar{X}

$$\begin{aligned}
 X_i &= \sum_{j=1}^r X_j & 33.5 & \quad 10.2 & \quad 3.4 & \quad 3.9 & \quad 2.4 & \quad 2.4 \\
 \bar{X}_i &= \frac{\sum_{j=1}^r X_j}{r} & 6.7 & \quad 2.04 & \quad 0.68 & \quad 0.78 & \quad 0.48 & \quad 0.48 \\
 G &= \sum_{i=1}^r X_i & 33.5 & + & 10.2 & + & 3.4 & + & 3.9 & + & 2.4 & + & 2.4 = 55.8 \\
 \bar{X} &= \frac{\sum_{i=1}^r \bar{X}_i}{r} & \frac{6.7 + 2.04 + 0.68 + 0.78 + 0.48 + 0.48}{6} & = & 1.86
 \end{aligned}$$

Como se ha definido el análisis de varianza como un proceso mediante el cual la variación total presente en un conjunto de datos se distribuye en componentes atribuibles a diferentes fuentes

$$X_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

X_{ij} = observaciones j-ésimas de la columna en el i-ésimo tratamiento.

μ = media global

τ_i = efecto del i-ésimo tratamiento
 ϵ_{ij} = efecto experimental

VARIACION TOTAL:

Suma de cuadrados total.- es la suma de los cuadrados de las desviaciones de cada observación respecto a su media en todas las observaciones tomadas en conjunto (SC_t).

$$\text{donde: } SC_t = \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r x_{ij}^2 - Fc$$

$$\text{donde: } Fc = \frac{G^2}{rt} = \text{Factor de corrección}$$

$$Fc = \frac{(55.8)^2}{5(6)} = 103.788$$

$$SC_t = (1.1)^2 + (1.1)^2 + (0.6)^2 + \dots + (0.5)^2 \\ = 372.66 - 103.788 = 268.872$$

con (r) (t) - 1 grados de libertad = 29 grados de libertad.

VARIACION ENTRE METODOS:

Suma de cuadrados de tratamientos.- Es requerida para obtener para cada grupo o tratamiento, la desviación al cuadrado de la media del grupo con respecto a la gran media y multiplicar el resultado por el tamaño del grupo para poder sumarse estos resultados sobre todos los tratamientos.

$$SC_{\text{trat}} = \frac{\sum_{i=1}^t x_i^2}{r} - Fc$$

$$SC_{\text{trat}} = 5 \left[\frac{(33.5)^2}{(5)^2} + \frac{(10.2)^2}{(5)^2} + \frac{(3.4)^2}{(5)^2} + \frac{(3.9)^2}{(5)^2} + \frac{(2.4)^2}{(5)^2} + \frac{(2.4)^2}{(5)^2} \right. \\ \left. + \frac{(2.4)^2}{(5)^2} + \frac{(55.8)^2}{(5)^2 (5)} \right]$$

$$SC_{trat} = \frac{(33.5)^2 + (10.2)^2 + (3.4)^2 + (3.9)^2 + (2.4)^2 + (2.4)^2}{5} - 103.78$$

$$= 106.975 \quad \text{con } t - 1 \text{ grados de libertad} \quad 5 \text{ grados de libertad.}$$

VARIACION DENTRO DE CADA METODO:

Se comprenden los cálculos dentro de cada grupo, la suma de las desviaciones al cuadrado de las observaciones individuales respecto a la media. (SC_{error}). Por ejemplo para A_1 :

$$(1.1)^2 + (1.1)^2 + \dots (6.7)^2 - \frac{(33.5)^2}{5}$$

PARA A_2 :

$$(1.1)^2 + (1.1)^2 + \dots (4.8)^2 - \frac{(10.2)^2}{5}$$

PARA B_1 :

$$(0.6)^2 + (0.6)^2 + \dots (0.5)^2 - \frac{(0.68)^2}{5}$$

PARA B_2 :

$$(0.8)^2 + (0.6)^2 + \dots (1.1)^2 - \frac{(0.78)^2}{5}$$

PARA C_1 :

$$(0.2)^2 + (0.5)^2 + \dots (0.3)^2 - \frac{(0.48)^2}{5}$$

PARA C_2 :

$$(0.2)^2 + (0.5)^2 + \dots (0.5)^2 - \frac{(0.48)^2}{5}$$

y realizar la sumatoria de los tres resultados, pero como se sabe - que:

$$SC_t = SC_{trat} + SC_{error}$$

$$SC_{error} = SC_t - SC_{trat} \quad \text{con } t(r - 1) \text{ grados de libertad}$$

$$SC_{\text{error}} = 268.872 - 106.975 = 161.897 \text{ con } 24 \text{ grados de libertad.}$$

A partir de las sumas de cuadrados ya calculados (que en realidad son los numeradores de las varianzas), es posible obtener las varianzas de cada fuente, conocidas como CUADRADOS MEDIOS-- (CM) que son las divisiones de la suma de cuadrados entre los grados de libertad correspondientes.

$$CM_{\text{trat}} \longrightarrow 106.975/5 = 21.395$$

$$CM_{\text{error}} \longrightarrow 161.897/24 = 6.745$$

Ahora ya puede construirse la tabla de análisis de varianza:

FUENTE DE VARIACION	g.l	S,C	C.M	"F"
Tratamientos	5	106.975	21.395	3.304
Error	24	161.897	6.745	
TOTAL	29	268.872		

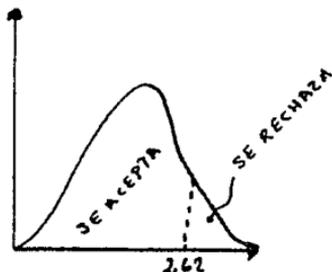
Para obtener el valor de "F" o Razón de Variación, que se refiere a la comparación entre los dos cuadrados medios o varianzas se divide el cuadrado medio de tratamientos entre el cuadrado medio del error:

$$F = \frac{\text{Cuadrado medio de Tratamientos}}{\text{Cuadrado Medio del Error}} = \frac{21.395}{6.745} = 3.171$$

Este factor "F" de Fisher, es necesario para responder a la hipótesis planteada al inicio, el cual se compara con el valor crítico de "F" que puede observarse en tablas (tablas A₁₀, A₁₁ de 1), donde se busca con los grados de libertad del numerador (grados de libertad de tratamientos) entre los grados de libertad del denominador (grados de libertad del error) y con α de 5% para detectar si hay diferencia significativa o altamente significativa entre las medias de tratamientos.

Para este ejemplo:

$$\alpha = 5\% \quad F_{24}^5 = 2.62$$



Por lo tanto el valor obtenido de "F" o sea "F" calculado cae en el area de rechazo de la hipótesis nula.

PRUEBAS POST-ROVI

Estas pruebas se realizan para probar hipótesis sobre diferencias entre medias; las hipótesis son formuladas después de ver los resultados experimentales. Entre estas pruebas tenemos a: DMS, DUNCAN, SCHEFFE Y TUKEY(DMSH).

De las pruebas anteriores se eligieron la de Duncan, la cual tiene una potencia media pero no es tan rigurosa y la de Tukey(DMSH) que tiene poca potencia pero es muy estricta.

Duncan es una prueba de amplitud múltiple, su ventaja consiste en su sencillez, es más potente que la de Tukey.

Tukey(DMSH) es una prueba con poca potencia (potencia $1 - \beta$) o sea, que no deja pasar falsos resultados, pero medias que son ciertas muchas veces son rechazadas; a diferencia de la prueba-

de DMS(diferencia mínima significativa de Student) que es una prueba múltiple de "t" de Student con alta potencia pero baja rigurosidad, aumentando la probabilidad de cometer error tipo I dejando pasar muchas pruebas como verdaderas cuando son falsas.

En la prueba de Duncan, es necesario conocer el factor "rp" que es el rango estudentizado significativo mínimo con nivel de significancia α , con "t" números de tratamientos y grados de libertad de error.

$$\text{DUNCAN} = \text{"rp"} \quad \text{t.g.l}$$

$$R_p = r_p \sqrt{\frac{C.M_{\text{error}}}{r}}$$

donde :

R_p = rango significativo para "p" muestras

r_p = rango estudentizado significativo mínimo(tablas)

En la prueba DMSH, es necesario conocer el factor -- "q" que es el rango estudentizado con un nivel de significancia α , con "t" números de tratamientos y grados de libertad del error.

El valor "q" evalua una gama de medias de tratamientos y no solamente dos como en la prueba DMS.

$$\text{DMSH} = q, \quad \text{t. g. l.} \quad S\bar{X}$$

$$\text{donde :} \quad S\bar{X} = q \sqrt{\frac{C.M_{\text{error}}}{r}}$$

Por lo tanto el ejemplo presentado en el Análisis de Varianza donde se presento diferencia significativa la prueba de -- Duncan quedo de la siguiente manera:

$$r_p \text{ con } \alpha = 5\% \quad t = 6 \text{ trats.} \quad \text{g.l. error} = 24$$

En la tabla A de (1) se encuentran los rangos estu-
dentizados significativos mínimos "rp" igual a

$$R_p = 3.26 \sqrt{\frac{6.745}{6}} = 3.456$$

todo número de la diferencia entre medias que exceda este valor pre-
senta diferencia significativa.

Mientras que en la prueba de Tukey queda de la siguien-
te manera:

$$q \text{ con } \alpha = 5\% \quad t = 6 \text{ trats} \quad \text{g.l error} = 24$$

En la tabla A_8 de (1) se encuentran los porcentiles
de la distribución "q", tomando los 24 g.l del error se tiene que--
 $q = 4.17$

$$S\bar{X} = 4.17 \sqrt{\frac{6.745}{6}} = 4.17(1.0602) = 4.421$$

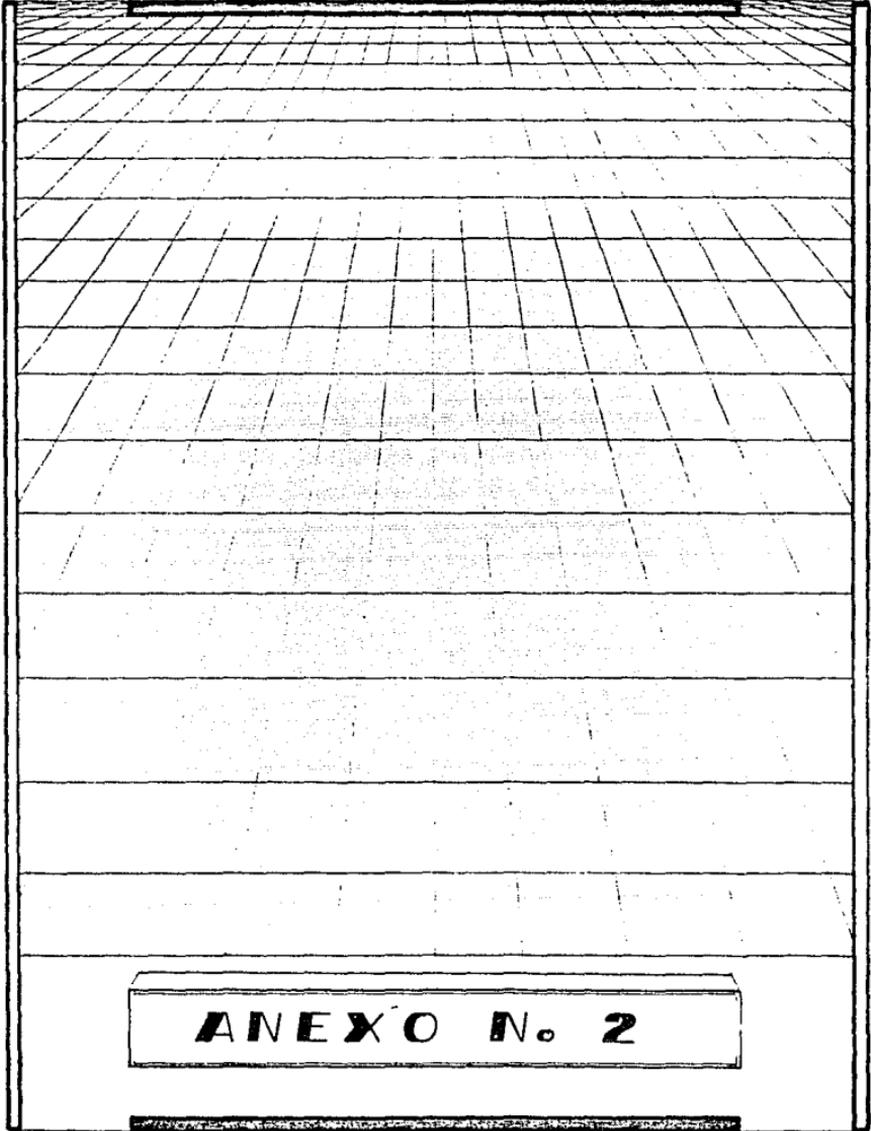
todo número de la diferencia que exceda este valor--
4.633 presenta diferencia significativa.

Por lo tanto si se consulta el cuadro No. 3 se pre-
sentan los resultados que se encuentran en el siguiente cuadro:

Este cuadro muestra las diferencias entre las medias de los tratamientos:

DIFERENCIAS ENTRE MEDIAS			SIGNIFICANCIA	
			DUNCAN	TUKEY
$A_1 - A_2$	$6.7 - 2.04 = 4.66$	n.s	+	
$A_1 - B_1$	$6.7 - 0.68 = 6.02$	++	++	
$A_1 - B_2$	$6.7 - 0.78 = 5.92$	++	++	
$A_1 - C$	$6.7 - 0.48 = 6.22$	++	++	
$A_2 - B_1$	$2.04 - 0.68 = 1.36$	n.s	n.s	
$A_2 - B_2$	$2.04 - 0.78 = 1.26$	n.s	n.s	
$A_2 - C$	$2.04 - 0.48 = 1.56$	n.s	n.s	
$B_1 - B_2$	$0.68 - 0.78 = -0.10$	n.s	n.s	
$B_1 - C$	$0.68 - 0.48 = 0.20$	n.s	n.s	
$B_2 - C$	$0.78 - 0.48 = 0.30$	n.s	n.s	

Esto nos indica que es A_1 con los otros tratamientos el que presentó las diferencias significativas y altamente significativas (comparado con los valores obtenidos para Duncan y Tukey(DM-SH, aún los que tienen valor negativo, pero que no sobrepasen el valor absoluto).



ANEXO N. 2

METODO DE TINSION HEMATOXILINA-EOSINA

PROCESO DE DESHIDRATACION, IMPREGNACION E INCLUSION

- 1) lavado en agua destilada.
- 2) Deshidratación, alcohol de 60⁰ 1 hora.
- 3) Alcohol de 70⁰ 2 horas.
- 4) Alcohol de 80⁰ 2 horas.
- 5) Alcohol de 96⁰ 2 horas.
- 6) Alcohol de 96⁰ 1 hora.
- 7) Alcohol absoluto 2 horas.
- 8) Alcohol absoluto 1 hora
- 9) Benceno 2 horas.
- 10) benceno 1 hora.
- 11) Primer baño de parafina 2 horas 60⁰.
- 12) Segundo baño de parafina 3 horas.

Estos pasos se hacen automáticamente en un aparato llamado Histokinette.

Se coloca en una placa de aluminio de 2 cm X cm, posteriormente se lleva al microtomo para cortes incluidos en parafina.

El corte ideal es de 4 a 6 micras.

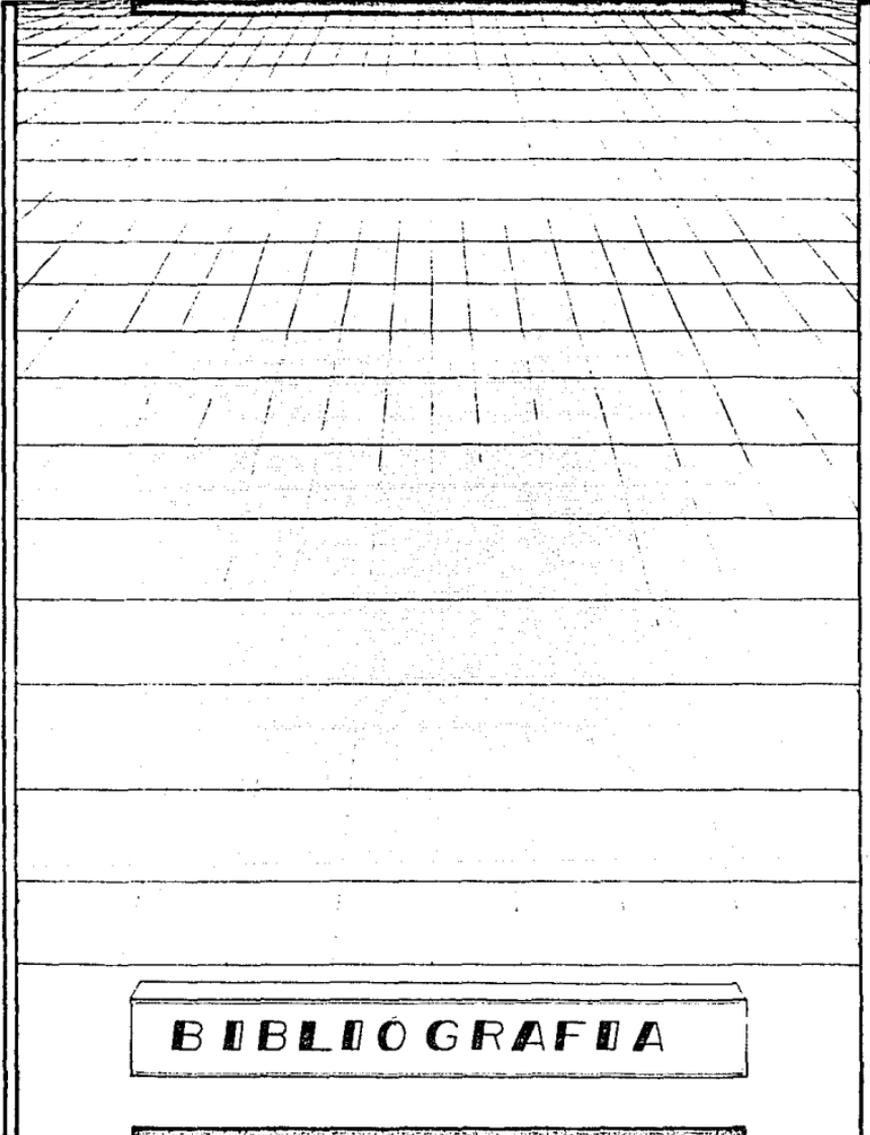
Después se pasa al baño de flotación de tejidos conteniendo agua destilada y grenetina a una temperatura de 40⁰ a 50⁰ donde el tejido se extiende perfectamente en la platina de calentamiento 10 minutos como mínimo.

Retirar de la platina y enfriarlo.

Después se pasa a la coloración por medio de una castilla.

METODO DE COLORACION (HEMATOXILINA-EOSINA).

- 1) Xilol 5 minutos.
- 2) Xilol 5 minutos.
- 3) Alcohol absoluto 5 minutos.
- 4) Alcohol de 96⁰ 5 minutos.
- 5) Alcohol de 90⁰ 5 minutos.
- 6) Agua destilada 5 minutos
- 7) Hematoxilina (Harris) 5-10 minutos.
- 8) Lavado en agua.
- 9) Pase rápido en alcohol ácido.
- 10) Agua donde toma color intenso.
- 11) Eosina de 3 a 5 minutos.
- 12) Alcohol de 69⁰ 5 minutos.
- 13) Alcohol de 96⁰ 5 minutos.
- 14) Alcohol absoluto 5 minutos.
- 15) Alcohol absoluto 5 minutos.
- 16) Xilol 5 minutos.
- 17) Xilol 5 minutos.
- 18) Montaje en Resina Sintética.



BIBLIOGRAFIA

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Bauer E. L. Manual de Estadística para Químicos. Versión Española de J. López Ruiz. Editorial Alhambra. Primera Edición Española. España 1974. Pags. 174-177.
- 2.- Fuensalida Sergio; Dabancens Alfredo. Mecanismo de Acción de los Estrógenos Conjugados como Anticonceptivo. I. Investigación Clínica. Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología. 41(3): 333, 1977.
- 3.- Ganong William F. Manual de Fisiología Médica. Cap. 20. La Médula y la Corteza Adrenales. Editorial El Manual Moderno. Sexta Edición. México 1978.
- 4.- Garza Flores Josue; Rodríguez Victoria; Palacios Gregorio. Eficacia de Anticonceptivos Inyectables en Mujeres Mexicanas. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. 98(2):181-185, - 1985.
- 5.- Kadar M.M. Abdel; Galal E. E.; Idris Amal. Comparative Effect of Three Long-Acting Steroidal Contraceptives on Total and -- Fractional Urinary 17-oxosteroides in Rats. J. Drug Res. Egypt. 14(1 y 2): 133-140, 1983.
- 6.- Kadar M. M. Abdel; Zeinab H. M.; El-Kirdassy. Effect of Long-Active Contraceptive Drugs on Serum Tryptophan of Rats. J. Drugs Res. Egypt. 13(1 y 2):33-35, 1981.
- 7.- Kadar M. M. Abdel; Zaky A. H. Effect of Some Long-Acting Steroid Contraceptive on Some Enzymes in Goats and Rabbits. Egypt J. Vet. Sci. 16(1 y 2): 151-158, 1979.
- 8.- Katzung Bertram G.; Farmacología Básica y Clínica. Cap. 40 --- Hormonas Gonadales e Inhibidores. Editorial El Manual Moderno-Segunda Edición. México 1986.

- 9.- Katzung Bertram G.; Compendio de Farmacología. Cap. 39 -----
Hormonas Gonadales e Inhibidores. Editorial El Manual Moderno.
Primera Edición. México 1987.
- 10.- Kurihara Norio; Takadoro Sakuro; Ogawa Haruyoshi. Studies on -
Hormonal Actions of Dihydroxyprogesterona Acetophenide, Estradiol
Enanthats and Their Mixures. Japan J. Pharmacol. 22:43-58,
1972.
- 11.- Lerner L. J.; Brennan D. M.; and Borman A. Biological Activi--
ties of 16 alfa, 17 alfa Dihydroxyprogesterona Derivatives.
Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medici--
ne. 106: 231-234, 1961.
- 12.- Lerner L. J.; Brennan D. M.; Yiacas E.; DePhillipo M. and Ber--
man A. Effect of the Acetophenone Derivative of 16 alfa, 17 --
alfa Dihydroxyprogesterone on the Estrous Cycle, Mating and --
Fertility in the Rat. Endocrinology. 70: 283-287, 1962.
- 13.- Lerner L. J.; Yiacas E. D.; Bianchi A.; Turkheimer A. R.; ---
DePhillipo M. and Borman A. Pregnancy Maintenance in Ovariecto
mizad Rats with 16 alfa, 17 alfa Dihydroxyprogesterone Deriva--
tes and Other Progestegens. Fertility and sterility. 1(15):63-
71, 1964.
- 14.- Litter Manuel.; Farmacología Experimental y Clínica. Cap. 39 -
Farmacología del Sistema Genital Femenino. Hormonas Sexuales -
Femeninas. Editorial El Ateneo. Quinta Edición. México 1979.
- 15.- Melendez Pérez Rosalia. Tesis Profesional Caracterización de --
Germen de Arroz en Variedades Morelos A-70, Novolatos A-71, Cu
liacán A-62 y Joyutla Nailand y Desarrollo de Metodología y --
Equipo de Laboratorio para la Separación y Purificación de ---
Germen de Salvado Comercial. (ANEXO), 174-182, FESC-Cuautitlan.
México 1985.

- 16.- Memorandum de una Reunión de la OMS. Algunos Hechos en torno - a los anticonceptivos Inyectables. Boletín de la Revista Sanitaria Panamericana. 94(2): 176-191, 1983.
- 17.- Mishell Daniel R. Estado Actual de la anticoncepción con Esteroides Orales. Clin. Obstret. Gynecol. 19(743): 200-205, 1976.
- 18.- Programas de Planificación Familiar. Disipar Rumores Negativos sobre la Fecundidad después del Uso de Anticonceptivos. Population Reports. Serie j (28) octubre 1985. (publicado en inglés septiembre-octubre 1984).
- 19.- Puga Juan A.; Rosenberg David; Guiloff Enrique; Zañartu Juan. Estudio Histopatológico de la Acción de los Gestágenos sobre - el Ovario. Revista Chilena Obstretica y Ginecologica. 29(5): 313-318, Sep-Oct de 1964.
- 20.- Saulay de Jórgez Jacqueline. Anticonceptivos Inyectables. Rve. de Obst. y Gin. de Venezuela. 34(1): 223-232, 1976.
- 21.- Sheffield W. H.; Soule S. D.; Herzong G. M. Cyclic Endometrial Changes in Response to Monthly Injections of Estrogen-Progesto gen Contraceptive Drug. Am. J. Obst. and Gynecol. 103(6):25,-- 1972
- 22.- Taymor M. L.; Planck S. and Yahis C. Ovulation Inhibition with a Long-Acting Parenteral Progestogen-Estrogen Combination. Fertility and Sterility. 15(6): 653-660, 1964.
- 23.- Velasco Victor Luis; Aparicio Luis Eliseo. Efectos Colaterales de los anticonceptivos de Déposito. Prensa Medica Mexicana. 37(1 y 2): 25, 1972.
- 24.- Wallach Edward E. and García Celso Ramón. Contraception with - an Intramuscular Estrogen-Progestogen Preparation Administered Monthly. Contraception. 1(3): 185-205, 1970.

25.- Zañartu Juan y Navarro Carlos. Inhibición de la Fertilidad ---
por un Progestágeno Inyectable que Actua por tres meses.

Departamento de Fertilidad, Clínica Obstretica Universitaria.
Santiago de Chile 1968.