



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores
"QUAUTITLAN"

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS EFECTOS
ADVERSOS PRODUCIDOS EN RATAS LONG
EVANS POR DOS COMPUESTOS CONTRA-
CEPTIVOS INYECTABLES DE USO COMER-
CIAL EN MEXICO

FALLA DE ORIGEN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
AMPARO RAMOS AGUILAR

Director de Tesis QFB. Maricela Noé Martínez



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).

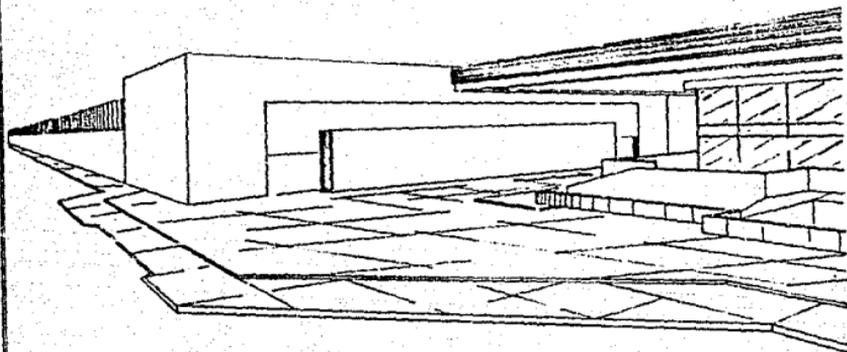
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

U N A M

F E S C

O E B

I N D I C E



INDICE

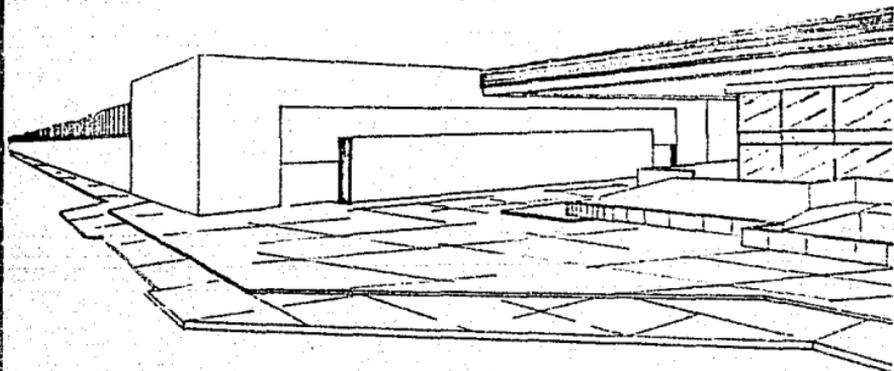
TEMA	PAGINA
I.- INTRODUCCION	1
II.- GENERALIDADES	
II.1.- EFECTOS ADVERSOS PRODUCIDOS POR LOS ANTICON- CEPTIVOS INYECTABLES	4
II.2.- MECANISMO DE ACCION DE LOS ANTICONCEPTIVOS INYECTABLES	6
II.3.- CLASIFICACION DE LOS ANTICONCEPTIVOS INYECTABLES	7
II.4.- GENERALIDADES DEL MEDICAMENTO NORISTBRAT.....	10
II.5.- GENERALIDADES DEL MEDICAMENTO PERLUTAL.....	12
III.- OBJETIVO	16
IV.- MATERIAL	17
V.- METODOLOGIA	20
VI.- RESULTADOS	25
VII.- DISCUSION	44
VIII.- CONCLUSIONES	46
IX.- ANEXO No. 1	48
X.- ANEXO No. 2	62
XI.- BIBLIOGRAFIA	65

UNAM

EEEG

QEB

INTRODUCCION



I. INTRODUCCION

Los anticonceptivos inyectables no están libres de problemas debido a que presentan efectos adversos en muchas mujeres, al cabo de poco tiempo de administrarlos, se pueden observar trastornos de los ciclos menstruales haciéndolos más cortos o más prolongados, así como también pueden ser irregulares o excesivos considerados como un síntoma de enfermedad y la amenorrea como un signo de embarazo. En estudios recientes realizados en hijos de exusuarias de anticonceptivos se encontró que tenían mayor probabilidad de presentar malformaciones congénitas periféricas de las extremidades que los hijos de mujeres que no habían usado ningún método anticonceptivo (10)(11).

Las pruebas toxicológicas de los anticonceptivos inyectables, realizadas en animales de laboratorio han mostrado desarrollo de tumores en útero y mamas siendo algunos de estos malignos. Los estudios epidemiológicos realizados en diversos países del mundo no han sido suficientemente extensos y han carecido de controles adecuados y del seguimiento a largo plazo necesarios para arrojar resultados concluyentes (18).

En tratamientos prolongados el retorno a la fecundidad después de suspender el medicamento puede retardarse, hay quienes temen que con el tiempo, el estrógeno sintético de

Los productos que circulan en América Latina se vayan acumulando en el organismo, lo cual podría contribuir a que se retrase la fertilidad después de dejar el método, o causar efectos tóxicos imprevistos, la acumulación de estrógeno en las mujeres ha sido objeto de muy pocas investigaciones, por lo que se recomienda especialmente que el uso de Depo-Provera (Acetato de medroxiprogesterona de depósito) se ha limitado nada más en mujeres mayores de 35 años y con familias completas — (10)(15)(18).

Debido a los problemas que causan los anticonceptivos inyectables la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (US FDA) recomienda continuar en América Latina la investigación de dichos medicamentos en tres especies: ratas, perros y monos para descartar un posible efecto carcinógeno. Esta exigencia se complementa con el hecho de que cualquier resultado positivo sea considerado como falta de seguridad del producto (3).

Las razones para realizar los estudios de anticonceptivos inyectables en animales son varias; pueden revelar efectos adversos sin ningún riesgo para humanos, el control de los estudios es más fácil, es posible administrar a los animales dosis mucho mayores que a los humanos, lo que permite identificar más rápidamente los efectos adversos incluyendo los que producen el cáncer (11)(18).

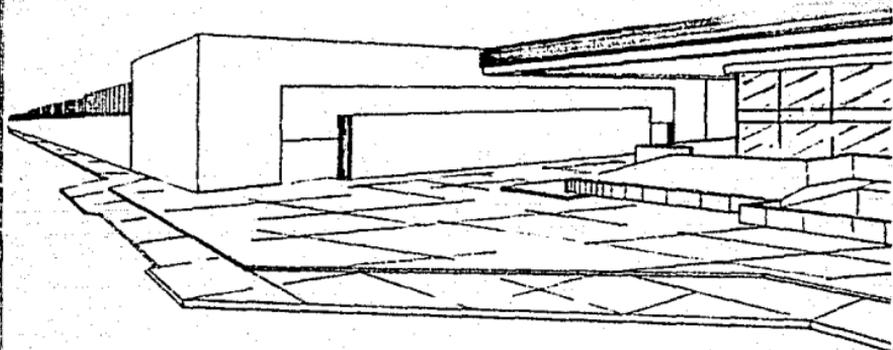
Por todo lo anteriormente mencionado se decidió realizar el estudio de los efectos adversos de dos anticonceptivos inyectables que son noristerat y Parlutal que se encuentran a la venta en el mercado mexicano.

U N A M

FESG

QIB

GENERALIDADES



II.1 EFECTOS ADVERSOS PRODUCIDOS POR LOS ANTICONCEPTIVOS INYECTABLES.

Los anticonceptivos o anovulatorios son fármacos que inhiben la ovulación por diferentes mecanismos de acción; después de 20 años de experiencias clínicas la anticoncepción hormonal inyectable continúa siendo uno de los métodos más controvertidos de los que se emplean actualmente para el control temporal de la fertilidad en la mujer (12)(23).

Esta controversia se acentuó en México a partir de Diciembre de 1980, debido a las disposiciones dictadas por la Secretaría de Salud y Asistencia que inicialmente no autorizó la promoción de anticonceptivos hormonales (inyectables y orales) de larga duración; posteriormente en Junio de 1981, reconsideró el empleo de enantato de noretisterona cada 84 días para anticoncepción inyectable (23).

En países como Tailandia, México, Nueva Zelanda se han realizado estudios en humanos sobre efectos adversos que causan los inyectables y los más comunes reportados son: trastornos menstruales, la mayoría de usuarias presentan algunas alteraciones del ciclo menstrual. Los patrones menstruales normales pueden ser reemplazados por amenorrea, sangrado irregular o "manchado", o cambios en la frecuencia, duración o carácter.

tidad de la pérdida de sangre. A pesar de que hasta un cuarto de las mujeres a las que le son administrados los inyectables pueden perder peso, la mayoría de ellas aumentan de peso. Los anticonceptivos inyectables parecen tener menos efectos en el sistema circulatorio que los orales. Al igual que otras hormonas el acetato de medroxiprogesterona de depósito (DMPA), altera el metabolismo de los carbohidratos, pero no se ha informado del desarrollo de Diabetes en usuarias de DMPA como anticonceptivo. Respecto al metabolismo de los lípidos los efectos producidos por los inyectables son menos claros ya que no se han concluido los estudios a largo plazo, en algunas investigaciones se ha observado un aumento del colesterol con el uso más prolongado de DMPA o una disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Con el enantato de noretisterona (EE) también se encontró una disminución de HDL. A diferencia de los anticonceptivos de estrógenos y progestina combinadas, los inyectables de solo progestinas, parecen tener pocas alteraciones de la tensión arterial o de los sistemas de coagulación y fibrinolíticos que influyen en la coagulación de la sangre, ya que los estudios de laboratorio en su mayoría así lo reportan. Ni el DMPA ni el EE parecen tener efectos permanentes en la fertilidad, es posible que con cualquiera de los dos inyectables la mujer no ovule o conciba durante varios meses después de dejar de usarlo (4)(7)(10)(11)(15)(16)(26).

Otros Efectos Adversos son: dolores o distensión abdominal, náuseas, vómitos, vértigos, mareos, dolor de cabeza, ce-

faleas, nerviosidad, escalofríos, cambios en la pigmentación cutánea, galactorrea, menstruación dolorosa, disminución de la libido, orgasmo disminuido, acné, así como también si la aplicación de dicha inyección no se realiza adecuadamente se produce ampulla en la piel (3)(10)(11)(15)(20).

II.2 MECANISMO DE ACCION DE LOS ANTICONCEPTIVOS INYECTABLES

Estos medicamentos evitan el embarazo en forma parecida a los anticonceptivos orales al:

- 1.-Inhibir la ovulación en la mujer, los progestágenos afectan la ovulación actuando sobre el eje hipotalámico-hipofisario, suprimiendo la producción de hormona luteinizante (HL) que se ve a la mitad del ciclo inmediatamente antes de la ovulación. Sin esta producción de hormona, la ovulación no se realiza (16)(18).
- 2.-Aumentar la viscosidad del moco cervical, formando así una barrera para el transporte de los espermatozoides, los progestágenos inyectables hacen que el moco cervical sea escaso, viscoso y pegajoso, como lo es durante el embarazo y durante la porción final infértil del ciclo menstrual. Este moco interfiere con el movimiento de las células espermáticas en el útero (11)(18).

3.--Cambiar la velocidad de transporte del huevo a través de los oviductos (18).

4.--Hacer el endometrio menos adecuado para la implantación y anidación del huevo, bajo el tratamiento anticoncepcional con progestágenos, el endometrio se hace inadecuado para soportar un huevo fecundado. Los inyectables parecen también producir cambios en los oviductos, interfiriendo con el transporte del huevo y/o actividad de transporte del espermatozoide (11).

II.3 CLASIFICACION DE LOS ANTICONCEPTIVOS INYECTABLES

En la actualidad se disponen de anticonceptivos inyectables de aplicaciones mensuales y trimestrales.

Los inyectables mensuales tienen un uso muy difundido en América Latina y China, aproximadamente 1,5 millones de mujeres lo usan a pesar de que se han desarrollado más de 15 fórmulas para anticonceptivos inyectables mensuales que, consisten de un preparado progestina-estrógeno, solo tres de éstos se han probado en un número grande de mujeres, y sólo dos se han comercializado, las disponibles actualmente son: 1) una combinación de 75-150 mg de acetofénido de dihidroxiprogesterona y 5-10 mg de enantato de estradiol, empleada sobre todo

en América Latina y 2) una combinación de 250 mg de caproato de 17-hidroxiprogesterona y 5 mg de valerato de estradiol, em pleado solo en China. Se estima que en México 300 000 mujeres recurren ahora a la primera preparación y que otras tantas la utilizan en otros países de América Latina. Esta combinación de acetofénido de dihidroxiprogesterona y enantato de estradiol, lo tiene a la venta en México y Argentina Promeco bajo la marca de fábrica como Perlutal y en España con el nombre de Tobassl, en Chile como Agurin producidos por los laboratorios Recalcine (9)(10)(16)(18).

Se han investigado muy poco los inyectables mensuales y no se han resuelto las dudas acerca de la inocuidad de los productos vendidos en América Latina, si se ha estudiado exhaustivamente la fórmula empleada en China (10).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) está actualmente brindando apoyo a las investigaciones que se realizan sobre dos nuevos anticonceptivos inyectables mensuales, las preparaciones que se estudian están en la fase de prueba y puede que pronto sean lanzados al mercado probablemente en 1988 y son 1) Cicloprovera, una combinación de 25 mg de acetato de medroxiprogesterona en su forma de depósito (DMPA) y 5 mg de ciproionato de estradiol y 2) HRP102, una combinación de 50 mg de enantato de noretisterona (EN) y 5 mg de Valerato de estradiol (10).

Los inyectables de aplicaciones trimestrales consisten de un preparado de progestina sola, los de mayor difusión son acetato de medroxiprogesterona de depósito (DMPA) cuyo nombre comercial es Depo-Provera y se administra en dosis trimestral de 150 mg y el enantato de noretisterona (EN) en dosis de --- 200 mg bajo marca comercial de Noristerat, ambos han sido utilizados en cerca de cien países. Aproximadamente cinco millones de mujeres emplean el DMPA o el EN. En México, solo está recomendado el empleo de enantato de noretisterona que por su metabolismo más rápido, produce menos efectos adversos y un retorno más rápido de la fertilidad al descontinuarlo (10) -- (19)(23).

La publicidad de Depo-Provera 150 en varios idiomas, refleja el amplio uso del inyectable, alrededor de 4 millones de mujeres lo utilizan. Las ampollitas que contienen DMPA debe ser agitadas vigorosamente para evitar que cualquier sedimento se deposite en el fondo del envase, su aplicación es en el brazo (10)(18).

Los inyectables son actualmente los únicos anticonceptivos hormonales de acción prolongada cuyo uso tiene amplia difusión. Se estima que 6,5 millones de mujeres recurren a este método. Según las encuestas y los datos de producción y ventas el uso de inyectables está más difundido en Jamaica, Tailandia, Indonesia, México, Nueva Zelandia y China (10).

II.4 GENERALIDADES DEL MEDICAMENTO NORISTERAT

Noristerat es un anticonceptivo inyectable que tiene como principio activo a la progestina denominada enantato de noretisterona derivada de los 19-Noresteroides cuyo núcleo químico es de origen testosterónico y conservan ciertas o nulas propiedades androgénicas (12)(23).

Su presentación es una ampollita de 1 ml que contiene 200 mg de EN es una solución aceitosa y viscosa difícil de succionar y aplicar con la jeringa se recomienda entibiar la ampollita, su aplicación es por vía intramuscular, el enantato de noretisterona fue la primera progestina inyectable usada como anticonceptivo con el nombre comercial de Noristerat y el primer país donde se comercializó fue en Perú (18)(11).

Después de haber descubierto que el Noristerat produce nódulos en la hipófisis y mamas de ratas, Schering AG suspendió los ensayos clínicos y retiró el inyectable del mercado en Perú, el único país en el cual estaba a la venta. Estudios posteriores revelaron que en las ratas, Noristerat tiene efectos estrógenicos intensos, en lugar de los efectos progestacionales que tienen en conejas y seres humanos. Los investigadores de Schering dicen que este efecto estrógeno en roedores produce proliferación hipofisiaria y tumores y aumenta la secreción de prolactina por la hipófisis. La prolactina aumen

tada estimula más el crecimiento mamario y desencadena el desarrollo de células mutantes (11)(18).

La preocupación sobre los inyectables proviene de estudios practicados en perros (Beagle), que desarrollaron tumores benignos y malignos, así como de estudios en monas, que contrajeron cáncer del endometrio mientras recibían altas dosis de estas hormonas. Además se han manifestado efectos que no están directamente relacionados con el crecimiento de tejido de mamas o el desarrollo de tumores, incluyen la piómetra (un tipo de infección uterina) y acromegalia (un estado de crecimiento anómalo) (18).

Estudios toxicológicos realizados con enantato de noretisterona (EN) en roedores se ha observado que presenta actividad estrogénica en dichos animales de experimentación, en ratas, tumores de mama y alteraciones oculares producidos por este producto. Se ha considerado que ni los efectos progestagénicos ni las alteraciones debidas a la actividad estrogénica tienen la importancia toxicológica (13).

Se realizó un estudio en 130 mujeres chilenas con enantato de noretisterona y se encontró que los efectos que produce el anticonceptivo son trastornos del ciclo menstrual así como cefaleas, mareos, tensión nerviosa; se le practicó un Papanicolaou antes de la terapia y cada 12 meses, se observó que, el

cérvix frecuentemente tenía un color más violáceo y aumentó de peso, probablemente se debe este efecto a que en el período teórico de la ovulación el moco cervical fue viscoso y estaba lleno de leucocitos y mostraba ya su negativa cristalización. Se encontró también que al administrarse cada tres meses una inyección no se mantiene la efectividad anticoncepcional ya que se presentó 3 embarazos durante el segundo o tercer mes después de la última inyección en 2.3% de las pacientes (26).

II.5 GENERALIDADES DEL MEDICAMENTO PERLUTAL

Perlutal es un anticonceptivo inyectable que tiene como principio activo a una combinación de progestina-estrógeno denominada acetofénido de la 16 α , 17 α dihidroxiprogesterona (ADHP) y enantato de estradiol (EE) (18)(21).

Su presentación es de una ampollita de 1 ml que contiene 150 mg de ADHP y 10 mg de EE en solución aceitosa; su aplicación es por vía intramuscular, esta preparación se formuló originalmente en Squibb Pharmaceutical Corporation, que la denominó Deladroxato, en Estados Unidos dicho medicamento lo retiraron de los ensayos clínicos a finales de los años sesenta a causa de temores surgidos por los tumores de mama en los perros de raza "beagle", la hiperplasia de la pituitaria en ra-

tas y la posible acumulación de enantato de estradiol en el organismo, Squibb ya no la fabrica pero preparaciones similares se venden con el nombre de Perlutal en México y Argentina fabricado por Promeco (10).

Pried et al describió en 1961 la clase de esteroides progestacionales de 16 y 17 dihidroxiprogesterona, y encontraron que este compuesto tiene la misma acción de la noretisterona en la promoción secretoria del endometrio, por lo que Taymor y colaboradores realizaron investigaciones en mujeres de este compuesto, observaron que al administrar 100 mg de ADHP, existe retiro del flujo en el 14avo al 28avo día. En el endometrio se mostró edema estromal, y sangrado uterino a los 19 días del ciclo. También administraron una combinación de 100 mg de ADHP y 10 mg de EE presentándose retiro de flujo entre el 11avo y 21avo día, en algunas mujeres se produjeron sangrados uterinos fuertes por lo que tuvieron que abandonar el estudio, y se observó amenorrea durante tres meses. El endometrio muestra las mismas características que cuando se administra ADHP solo (22).

Sheffisld en 1969, realizó un estudio en mujeres referente a la respuesta endometrial por el inyectable mensual ADHP y EE se obtuvieron biopsias endometriales de varios ciclos, - el efecto característico observado después del flujo y previo a la siguiente inyección consistió en la presencia de vacuolas citoplasmáticas en proliferación básica del endometrio con es

troma suelto, en el octavo día del ciclo el endometrio exhibe progresión incompleta de desarrollo de la glándula secretoria con reacción deciduoides mínima seguida por atrofia gradual y fracaso terminando en flujo menstrual. Al discontinuar el medicamento se presenta retraso de varios meses para que el endometrio vuelva a ser normal y el retorno a la fertilidad se establece en no menos de tres meses (21).

Investigaciones en 1970 de Wallach y colaboradoras sobre el uso del inyectable ADHP y EE, no se detectaron casos de carcinoma invasivo en las pacientes tratadas. Por medio de la biopsia de cérvix, once pacientes revelaron displasia cervical, una paciente carcinoma focal in situ así como otra paciente presentó metaplasia escamosa y cervicitis crónica. Se observó ganancia de peso promedio de 1.2 lbs después de la 12ava inyección (24).

En 1979 se realizaron experimentos de los efectos producidos por el anticonceptivo ADHP y EE, sobre la actividad en algunas enzimas de cabras y conejos, encontrándose que solo provocaron incrementos significativos en la actividad de la enzima aldolasa y puede ser debido al efecto de estos agentes en la glándula suprarrenal o puede ser debida a desarreglos hepáticos (5).

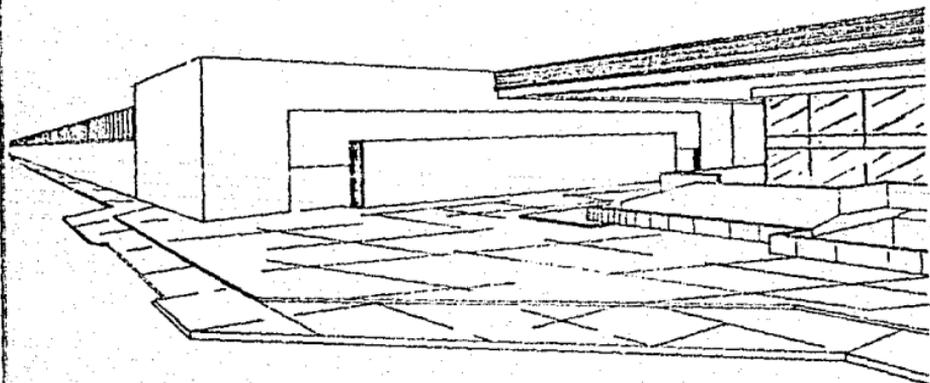
Kadar y colaboradores en 1931 reportaron que la mezcla formada por el ADHP y EE provocaron marcados disturbios del suero triptofánico, lo mismo sucede cuando se administra un anticonceptivo oral (6).

(5)

U N A M

F E S C

Q F B



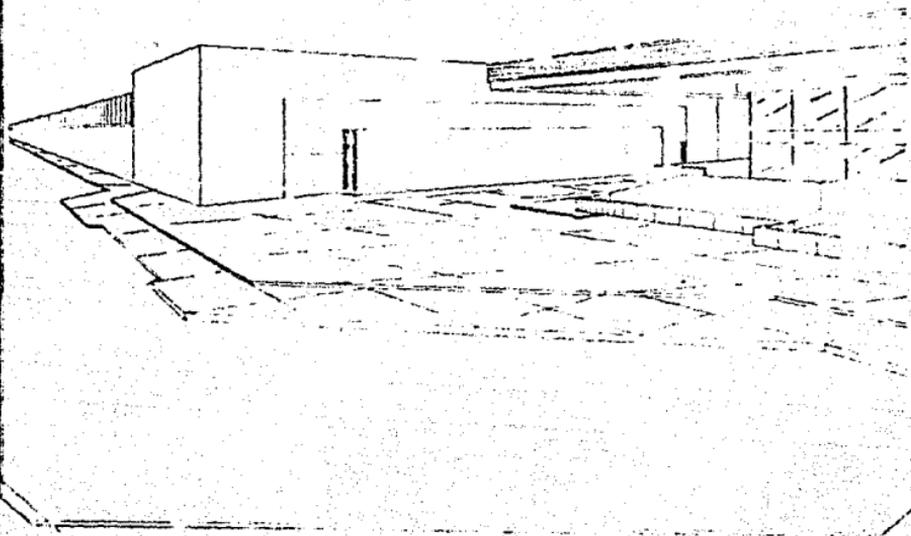
III. OBJETIVO

Comprobar y comparar en ratas Long Evans hembras, adultas y fértiles con una y cinco dosis terapéuticas, los efectos adversos producidos por los compuestos; Perlutal (Acetofénido de la 16 alfa, 17 alfa dihidroxiprogesterona y enantato de estradiol) y Noristerat (Enantato de no retisterona) en glándulas mamarias, glándulas suprarrenales, hígado, útero y ovarios.

UNAM

EEEC

OFF



IV. MATERIAL

Biológico:

40 ratas Long Evans (30 hembras y 10 machos)

Cristalería:

Vasos de precipitado

Matraces aforados

Matraces Erlenmeyer

Pipetas

Vidrios de Reloj

Cubreobjetos

Portaobjetos

Elástico:

Jeringas

Piseta

Jaulas

Metálico

Mechero

Espátula

Reactivos:

Alcohol Absoluto

Alcohol de 96°

Alcohol de 80°
 Alcohol de 70°
 Alcohol de 69°
 Benceno
 Agua destilada
 Acido pícrico
 Grenetina
 Hematoxilina (Harris)
 Bosina
 Giemsa
 Parafina
 Formol
 Resina Sintética
 Xilol

Equipo:

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

5.-Balanza Granataria TRIPLE DEAM BALANCE MODEL 700 OHAUS ---
SCALE CORPORATION.

Medicamentos:

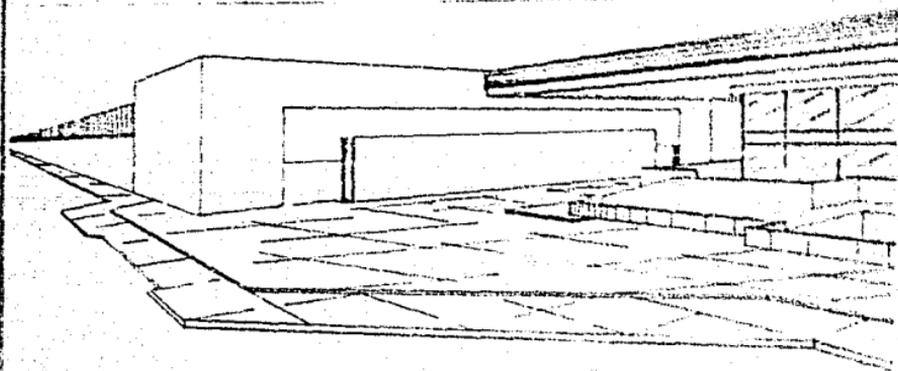
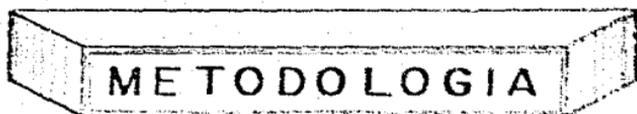
Noristerat (solución inyectable con 200 mg de Enantato de Noristerona. Laboratorios Schering Mexicana S.A).

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

U N A M

E E S C

O E B



V. METODOLOGIA

Para la comprobación de fertilidad biológica se utilizaron dos lotes de ratas Long Evans, el primero de 30 hembras y el segundo de 10 machos con peso aproximado de 250 g cada uno los cuales se aparearon y al nacer el producto se desecho.

Una vez comprobada la fertilidad se desecharon los machos y se trabajó con las 30 ratas hembras las que se marcaron y distribuyeron aleatoriamente en 6 subgrupos (N_1, N_2, P_1, P_2, C_1 y C_2) de 5 ratas cada uno, se pesaron cada tercer día y se siguió el ciclo estral por frotis vaginal diariamente a cada una de ellas durante dos semanas, antes de la administración del medicamento.

A los subgrupos N_1 y N_2 se les administró Noristarat 0.714 mg/kg de peso y a los subgrupos P_1 y P_2 Parlutal 0.536 mg/kg de peso, a los subgrupos C_1 y C_2 (testigos) Aceita de ricino 0.4 ml/kg de peso. Como lo muestra el cuadro No. 1.

A los subgrupos N_1, P_1 y C_1 se les administró una dosis del fármaco correspondiente a cada uno de ellos (Cuadro No.1) y se determinó el ciclo estral por frotis vaginal diariamente a cada una de ellas hasta completar una semana, posteriormente se sacrificaron para observación de las alteraciones ma-

croscópicas y microscópicas mediante la técnica de tinción — (Hematoxilina-Eosina ver Anexo No. 2) en útero, ovarios, glándulas suprarrenales e hígado.

A los subgrupos N₂, P₂ y C₂ se les administró los medicamentos correspondientes a cada uno de ellos hasta completar — 5 dosis (Cuadro No. 1) así mismo se les realizó diariamente — el frotis vaginal para determinar el ciclo estral durante 5 — semanas, concluido esto se procedió al sacrificio de los animales de experimentación para observar las alteraciones macroscópicas y microscópicas mediante la técnica de tinción — (Hematoxilina-Eosina ver Anexo No. 2) en útero, ovarios, glándulas suprarrenales e hígado.

CUADRO No. 1

SUB-GRUPOS	MEDICAMENTO	No. DE RATAS	DOSIS 0.714mg/kg de peso	DOSIS 0.536mg/kg de peso	DOSIS 0.4ml/kg de peso
N ₁	Noristerat	5	1	---	---
N ₂	Noristerat	5	5	---	---
P ₁	Perlutal	5	---	1	---
P ₂	Perlutal	5	---	5	---
C ₁	Aceite de Ricino	5	---	---	1
C ₂	Aceite de Ricino	5	---	---	5

Este cuadro muestra los subgrupos, medicamentos, número de animales y dosis administradas.

El frotis vaginal en la rata se efectuó de la siguiente manera:

Una vez sujeto el animal se introduce en el orificio vaginal unas gotas de solución fisiológica, mediante una jeringa. Posteriormente, mediante aspiración se recoge el contenido y se extiende uniformemente sobre un portaobjetos y se seca suavemente a la llama, después de lo cual se procede a la tinción: Tratamiento del portaobjetos desecado a la llama:

TINCION

- Pijación en alcohol-éter durante 3 minutos (1)
- Lavado en agua (1)
- Coloración con la solución de Giemsa durante 15-20 min. (1)
- Lavado en agua (1)
- Secado y observación (1).

Mediante la observación microscópica de los frotis se pueden distinguir las siguientes fases (Fig. No. 1) :

Diestro: En el campo microscópico aparecen abundantes leucocitos y muy escasas células epiteliales de la capa ba-

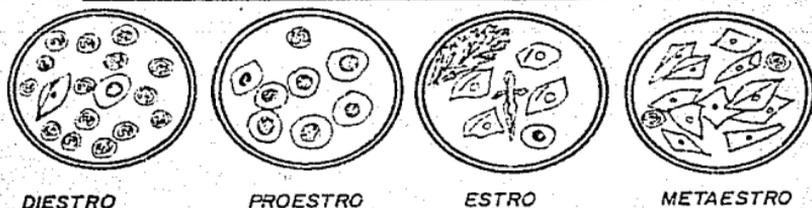
sal, los órganos genitales están anémicos (1)(12).

Proestro: El extendido vaginal muestra grandes células epiteliales nucleadas (12).

Estro: Se observan células cornificadas no nucleadas, eosinófilas y se pueden observar imágenes en forma de hojas de helecho (1)(12).

Metaestro: En esta fase se observan leucocitos y células epiteliales (12).

Figura No. 1

FASES QUE SE OBSERVARON AL MICROSCOPIO

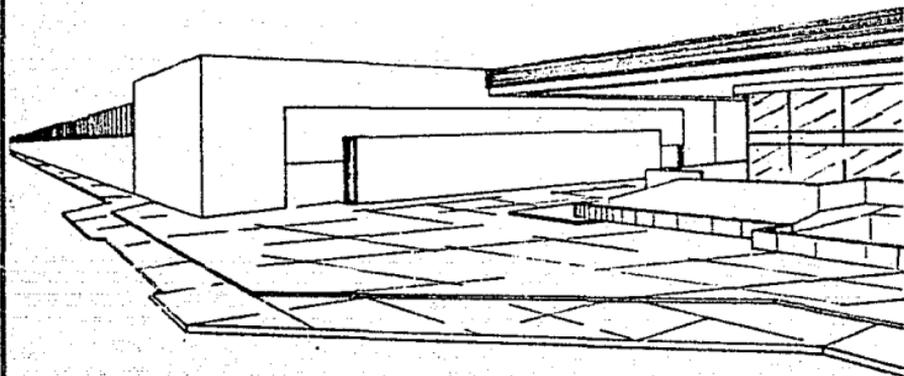
Esta figura nos enseña las células que se observaron al microscopio para verificar las fases del ciclo estral en las ratas.

UNAM

EEEG

QIB

RESULTADOS



VI. RESULTADOS

EFECTOS SOBRE GLANDULAS MAMARIAS.

Los animales tratados con una y cinco dosis de Noristerat (N) y Perlutal (P), así como los controles no presentaron macroscópicamente daño. Microscópicamente no se realizaron las pruebas por lo anterior.

EFECTOS SOBRE GLANDULAS SUPRARRENALES.

Macroscópicamente sin daño en una y cinco dosis de los medicamentos administrados y microscópicamente en ambas dosis algo congestivo con cambio grasa en la zona fascicular.

EFECTOS SOBRE HIGADO.

Sin cambio patológico aparente se observó macroscópicamente en una y en cinco dosis de N y P. Microscópicamente se observó congestivo, con necrosis focal en todos los tratamientos incluyendo al control.

EFFECTOS SOBRE UTEROS.

En una dosis de N macroscópicamente se observó ligeramente congestivo, al igual que los controles, N cinco dosis se presentó vascularización y acumulación de grasa.

Microscópicamente con la administración de N una dosis - presentó al igual que los controles, epitelio alto, glándula uterina dilatada, abundantes polimorfonucleares en el endometrio, neutrófilos, escasos linfocitos, abundantes polimorfonucleares de la mucosa cervical, N cinco dosis se observó epitelio cúbico alto, glándulas bien desarrolladas.

Macroscópicamente P una dosis, se presentó congestionado con cinco dosis se observó congestionado con contenido acuoso con apariencia purulenta, su peso varía dependiendo del contenido acuoso. Microscópicamente con P una dosis se observó epitelio cúbico alto, glándulas bien desarrolladas; con cinco dosis presentó glándulas dilatadas y aspectos quísticos (los resultados se encuentran resumidos en los cuadros No. 2 y 3).

EFFECTOS SOBRE OVARIOS.

Macroscópicamente los controles se observaron sin cambio patológico aparente, y en ambas dosis de N se observó conteni

do hemorrágico así como acumulación de grasa, con P una dosis se observó contenido hemorrágico y en cinco dosis en el ovario derecho de una de las ratas con aparente quiste folicular y cubiertos de grasa.

Microscópicamente con N, en ambas dosis así como el control se observaron varios cuerpos lúteos, congestivos con mayor cantidad de folículos, glándula intersticial, epitelio — oviducto alto, aspecto secretorio no tan marcado con P en una como en cinco dosis se observó folículos atrésicos en crecimiento (los resultados se encuentran resumidos en los cuadros No. 4 y 5).

La estadística de los efectos sobre el peso de úteros se encuentran en el cuadro No. 6 y el de los ovarios en el cuadro No. 9 .

EFFECTOS SOBRE CICLO ESTRAL.

Se presentan cambios en el ciclo estral de las ratas con N cinco dosis observándose la fase estro a partir de la tercera administración, regularizándose ligeramente el ciclo estral antes de la cuarta inyección después la fase estro se presenta de manera continua hasta la suspensión del tratamiento; con N una dosis se presenta irregular el ciclo estral ligeramente después de la administración, pero posteriormente se regulariza.

Los cambios en el ciclo estral con P cinco dosis son a partir de la primera inyección, observándose la fase estro de manera continua hasta antes de la tercera administración posteriormente se regulariza, poco después de la tercera dosis se mantiene la fase estro de manera continua durante todo el tratamiento; P una dosis presenta el ciclo estral irregular ya que se observa la fase estro al día siguiente de la administración, (ver gráficas 1 y 2).

EFFECTOS SOBRE PESO CORPORAL.

Estadísticamente con una y cinco dosis de N y P no marcaron diferencia (ver gráficas 3 y 4).

CUADRO No. 2 RESULTADOS MACROSCOPICOS Y MICROSCOPICOS OBTENIDOS EN UTERO:
CON NORISTERAT.

MEDICAMENTO	No. DE DOSIS	PESO PROMEDIO EN GRAMOS	OBSERVACIONES MACROSCOPICAS	OBSERVACIONES MICROSCOPICAS
Aceite de Ricino (control)	1 y 5	0,8	poco congestivo	Epitelio alto, glándula uteri- na dilatada, abundantes poli- nucleares en el endome- trio, neutrófilos, escasos -- linfocitos, abundantes poli- nucleares de la mucosa - cervical.
Noristerat	1	0,59	poco congestivo	Epitelio alto, glándula uteri- na dilatada, abundantes poli- nucleares en el endome- trio, neutrófilos, escasos -- linfocitos, abundantes poli- nucleares de la mucosa - cervical.
Noristerat	5	0,66	vascularización normalización de arterias.	Epitelio esbeto alto, glándu- las bien desarrolladas.

CUADRO No. 3 RESULTADOS MACROSCOPICOS Y MICROSCOPICOS DE BIOPSIAS EN UTEROS CON PERLUTAL.

MEDICAMENTO	No. DE DOSIS	PESO PROMEDIO EN GRAMOS	OBSERVACIONES MACROSCOPICAS	OBSERVACIONES MICROSCOPICAS
Aceto de Ricino (control)	1 y 5	0.8	Ligeramente congestivo.	Epitelio alto, glándula uterina dilatada, abundantes polimorfonucleares en el endometrio, neutrófilos, escasos linfocitos, - abundantes polimorfonucleares de la mucosa cervical.
Perlutal	1	1.08	Congestionado - rojizo.	Epitelio cúbico alto, glándula bien desarrollada.
Perlutal	5	3.74	Congestionado contenido acuoso acumulación de grana.	Epitelio cilíndrico alto, glándulas dilatadas, aspectos quísticos, luz del útero muy abundantes polimorfonucleares no ve como hiperplasia quística de las glándulas del endometrio.

CUADRO No. 4 RESULTADOS MACROSCÓPICOS Y MICROSCÓPICOS DE BIOPSIAS DE ENDOMETRIO EN OVARIOS CON NORISTERAT.

MEDICAMENTO	No. DE DOSIS	PESO PROMEDIO en GRAMOS	OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS	OBSERVACIONES MICROSCÓPICAS
Aceite de Ricino (control)	1 5	0.24	Sin cambio patológico aparente	Varios cuerpos lúteos, congesti vo, mayor cantidad de folículos glándula intersticial, epitelio oviducto alto, aspecto secreto rio no tan marcado.
Noristerat	1	0.22	Contenido hemorrágico, acumulación de grana	Varios cuerpos lúteos, congesti vo, mayor cantidad de folículos glándula intersticial, epitelio oviducto alto, aspecto secreto rio no tan marcado.
Noristerat	5	0.22	Contenido hemo — rrágico, anrojado	Varios cuerpos lúteos, congesti vo, mayor cantidad de folículos glándula intersticial, epitelio oviducto alto, aspecto secreto rio no tan marcado.

CUADRO No. 5 RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS Y FENOMENOS CLÍNICOS EN OVARIOS CON TRUFAL.

MEDICAMENTO	No. de SOLUC.	PESO PROPTIO EN GRAMOS	OBSERVACIONES MACROSCOPICAS	OBSERVACIONES MICROSCOPICAS
Aceite de Ricino (control)	1 5	0.24	Sin cambio patoló- gico aparente.	Varios cuerpos lúteos, congesti- vo, mayor cantidad de folículos glándula intersticial, epitelio oviducto alto, aspecto secreto- rio no tan abundante.
Perlutal	1	0.20	Contenido hemorrá- gico.	Folículos atrécicos en creci- miento, varios cuerpos lúteos, congestivo, mayor cantidad de folículos, glándula intersti- cial, epitelio oviducto alto, - aspecto secretorio.
Perlutal	5	0.18	Sin aparente quiza folicular en - el ovario derecho de una de las ca- tas subyuntas de grasa.	Folículos atrécicos en creci- miento.

En el cuadro No. 6 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. 7; en éste, se probó si la siguiente hipótesis se acepta o se rechaza:

Cuando $H_0 = \mu_{P_1} = \mu_{P_2} = \mu_{N_1} = \mu_{N_2} = \mu_{C_1} = \mu_{C_2}$ se acepta

Si $H_1 \neq H_0$

se rechaza con $\alpha = 5\%$

de tablas (2) tenemos que el valor de Fisher es de 2.62, por tanto tenemos que $4.229 > 2.62$ por lo que la hipótesis se rechaza, esto quiere decir que los pesos promedios 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. 8. Este cuadro nos indica que es la media del anticonceptivo Ferlutal con cinco dosis administrada la que causó el rechazo de la hipótesis, ya que comparando su media con las medias de los otros subgrupos va de significativa a altamente significativa, tanto en la prueba de Duncan como en la de Tukey, 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. 6

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

No. de Animal	P ₁	P ₂	N ₁	N ₂	C ₁	C ₂
1	0.4	0.6	0.3	0.5	0.4	0.4
2	0.7	4.2	0.6	0.6	0.8	0.9
3	0.6	1.3	0.6	0.6	0.7	0.6
4	1.3	4.2	0.7	0.7	0.9	1.0
5	2.4	8.4	0.7	0.9	1.2	1.1
\bar{X}	1.08	3.74	0.58	0.66	0.8	0.8
Sx	0.33	1.24	0.06	0.06	0.12	0.12

Este cuadro muestra el No. de animales, media aritmética, error estandar de los diferentes tratamientos.

P₁ = Perlutal una dosis

P₂ = Perlutal cinco dosis

N₁ = Noristerat una dosis

N₂ = Noristerat cinco dosis

C₁ = Aceite de Ricino una dosis control

C₂ = aceite de Ricino cinco dosis control

\bar{X} = Media aritmética

Sx = Error estandar

CUADRO No. 7

ANALISIS DE VARIANZA PARA LOS PESOS DE LOS UTEROS DES—
PUES DE LA ADMINISTRACION DE PERLUTAL Y NORISTERAT.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	F
Tratamiento	5	37.133	7.425	4.299
Error	24	41.46	1.727	
Total	29	78.59		

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

g.l = grados de libertad

SC = suma de cuadrados de los tratamientos

CM = cuadrados medios

"F" = valor de Fisher calculado

CUADRO No. 8

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

DIFERENCIAS ENTRE MEDIAS	SIGNIFICANCIA		
	DUNCAN	TURKEY	
$P_1 - C_1$	$1.08 - 0.8 = 0.28$	no	no
$P_1 - N_2$	$1.08 - 0.66 = 0.42$	no	no
$P_1 - N_1$	$1.08 - 0.58 = 0.50$	no	no
$P_2 - P_1$	$3.74 - 1.08 = 2.66$	++	+
$P_2 - C_1$	$3.74 - 0.8 = 2.94$	++	++
$P_2 - N_2$	$3.74 - 0.66 = 3.08$	++	++
$P_2 - N_1$	$3.74 - 0.58 = 3.16$	++	++
$N_1 - C_1$	$0.58 - 0.8 = -0.22$	no	no
$N_1 - N_2$	$0.58 - 0.66 = -0.08$	no	no
$N_2 - C_1$	$0.66 - 0.8 = -0.14$	no	no

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

P_1 =Perlutal una dosis

P_2 =Perlutal cinco dosis

N_1 =Noristerat una dosis

N_2 =Noristerat cinco dosis

C_1 =Aceite de Ricino

+ =Diferencia significativa

++=Diferencia altamente significativa

no=Diferencia no significativa

El cuadro No. 9 enseña 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 otros, como lo muestra el cuadro No. 10 .

En este análisis de varianza se probó la siguiente hipótesis:

Cuando $H_0 = \mu_{P_1} = \mu_{P_2} = \mu_{N_1} = \mu_{N_2} = \mu_{C_1} = \mu_{C_2}$ se acepta

Si $H_1 \neq H_0$

se rechaza con $\alpha = 5\%$

Tomando de las tablas el valor de Fisher (25) éste es de 2.62; si comparamos éste con el valor calculado, tenemos que $-1.469 < 2.62$ 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. 9

PESOS DE OVARIOS EN GRAMOS OBTENIDOS DESPUES DE LA ADMINISTRATION DE PERLUTAL Y NORISTERAT.

No. de Animal	P ₁	P ₂	N ₁	N ₂	C ₁	C ₂
1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.3
3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1
4	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.3
5	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4
\bar{X}	0.20	0.18	0.22	0.20	0.24	0.24
$S\bar{X}$	0.05	0.03	0.06	0.05	0.05	0.05

Este cuadro muestra el No. de animales, media aritmética, error estandar de los diferentes tratamientos

P₁ = Perlutal una dosis
 P₂ = Perlutal cinco dosis
 N₁ = Noristerat una dosis
 N₂ = Noristerat cinco dosis
 C₁ = Aceite de Ricino Control
 C₂ = Aceite de Ricino control

\bar{X} = Media aritmética
 $S\bar{X}$ = Error estandar

CUADRO No. 10

ANALISIS DE VARIANZA PARA LOS PESOS DE OVARIOS DES—
PUES DE LA ADMINISTRACION DE PERLUTAL Y NORISTERAT.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	F
Tratamiento	5	-0.1833	-0.0066	-1.4698
Error	24	0.5980	0.0249	
Total	29	0.4147		

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

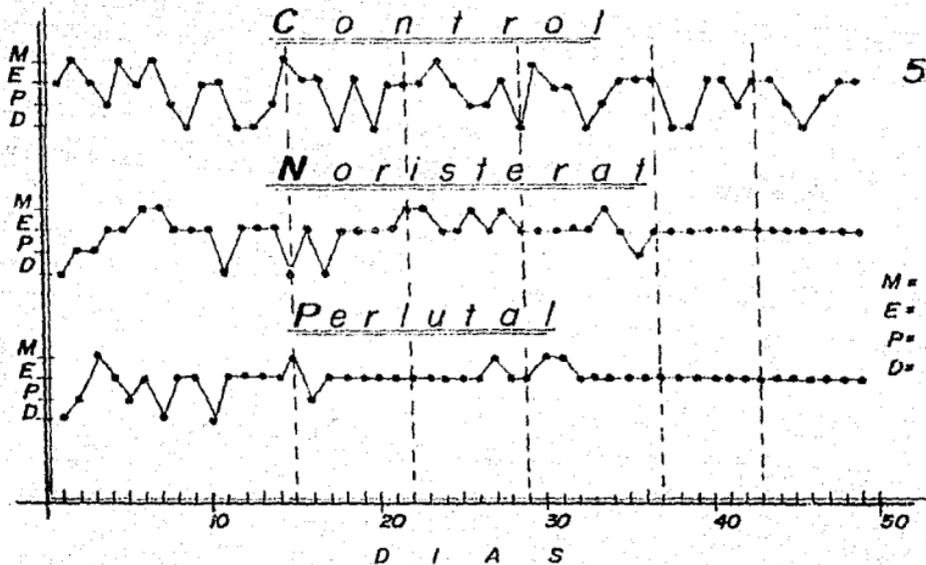
g.l= grados de libertad

SC = Suma de Cuadrados de los Tratamientos

CM = Cuadrados Medios

"F"= Valor de Fisher Calculado

FASES DEL CICLO ESTRAL



MEDICAMENTOS

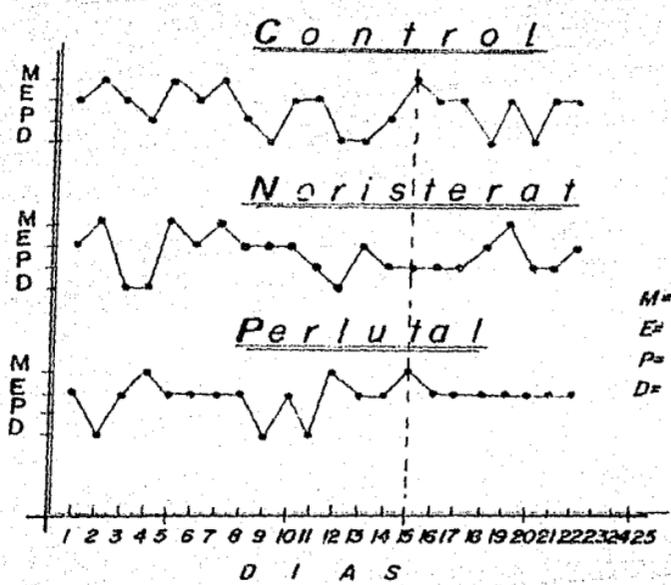
6:00

5 DOSIS

M = METAESTRO
E = ESTRO
P = PROESTRO
D = DIESTRO

GRAFICA 1

FASES DEL CICLO ESTRAL



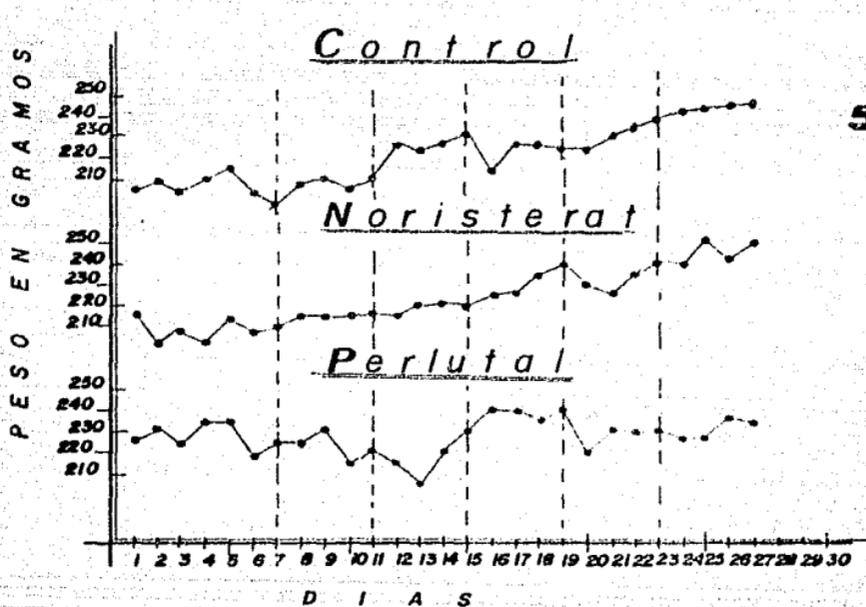
MEDICAMENTOS

COB

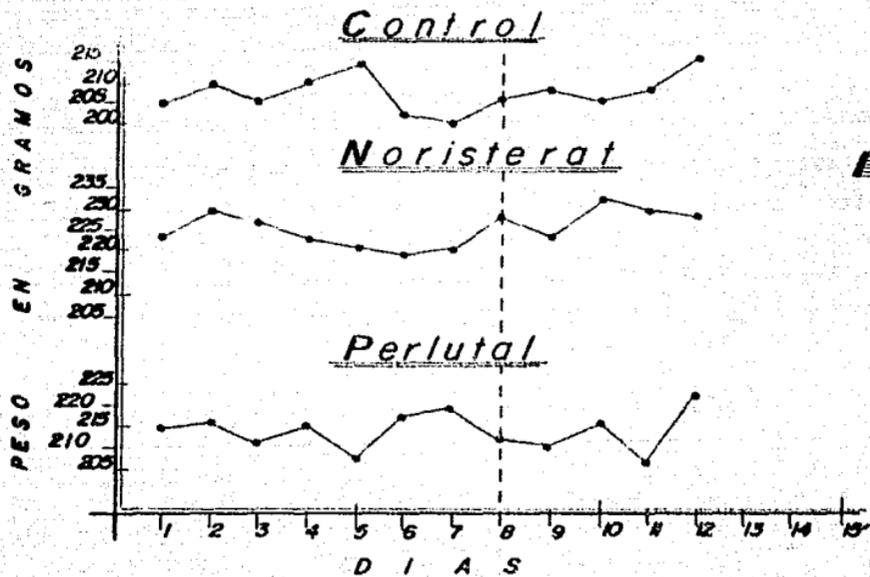
DOSIS

- M= METAESTRO
- E= ESTRO
- P= PROESTRO
- D= DIESTRO

GRAFICA 2



PESOS
 600
 500000



PESOS

CON

DOSIS

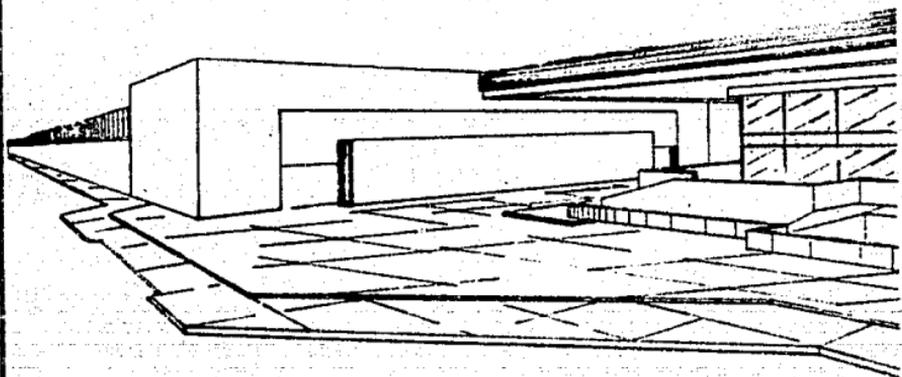
GRAFICA 4

U N A M

F E S C

O F F

DISCUSSION



VII. DISCUSION

No se presentó ningún cambio macroscópico en glándulas -
mamarias con una y cinco dosis de los dos anticonceptivos ad-
ministrados por lo que no se realizaron las pruebas microscó-
picas, probablemente los cambios se presenten a dosis mayores
de las utilizadas, ya que los autores Takadoro, Kurihara, --
Ogawa (1972) así lo reportan.

Se manifestaron cambios grasos de la zona fascicular en
glándulas suprarrenales, pero este cambio no se puede atri-
buir a los anticonceptivos debido a que se presentan en los -
controles.

Los efectos producidos en hígado no se pueden atribuir -
a los contraceptivos administrados ya que los controles tam-
bién los presentaron, este cambio tal vez se debió al alimen-
to que se les proporcionó a los animales de experimentación.

En úteros con Perlutal cinco dosis se presentó hidrope-
sia en cuatro casos y esto pudo ser debido al sinergismo en-
tre enantato de estradiol (EE) y acetofénido de dihidroxipro-
gesterona (DPRA) (8), también se puede decir que la hidrope-
sia produce atrofia del útero, con Noristerat no se observó -

este efecto ya que su composición es diferente y no se presentó el sinergismo como con Perlutal.

Con la administración de Perlutal cinco dosis se encontró desaparición de cuerpos lúteos y presencia de folículos atrésicos en crecimiento que confirman la atrofia de ovarios ya que existe inhibición de la secreción de HL (8). Con Noristerat no se observó lo anterior ya que en su formulación no contiene acetofénido de dihidroxiprogesterona con él que pueda causar dicha alteración.

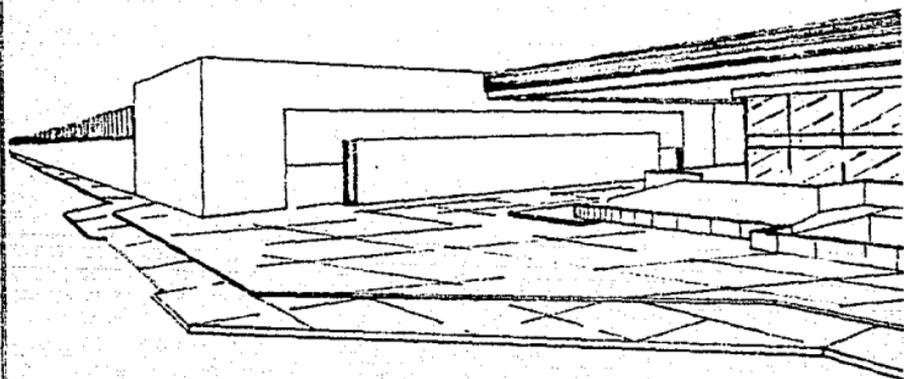
El ciclo estral es afectado por la administración de los anticonceptivos, porque se presenta irregular desde la primera dosis administrada con Perlutal y a partir de la tercera dosis con Noristerat, dichos cambios se observan por la presencia de la fase estro de manera continua y ellos nos indican que existe acumulación de estrógenos en el organismo lo cual de acuerdo a lo reportado puede causar los efectos tóxicos.

U N A M

FESC

QFB

CONCLUSIONES



VIII. CONCLUSIONES

- 1.-Noristerat y Parlutal a las dosis empleadas no presentaron alteraciones macroscópicas en las glándulas mamarias. Microscópicamente no podemos concluir nada ya que estas pruebas no se realizaron.
- 2.-Macroscópicamente en glándulas suprarrenales no se observó daño con los dos medicamentos utilizados. Microscópicamente el efecto producido tanto en controles como en animales tratados no se le atribuye al anticonceptivo ya que los controles también lo presentaron.
- 3.-Los dos contraceptivos no producen cambios macroscópicos ni microscópicos en hígado.
- 4.-Parlutal con cinco dosis produce hidropesía y atrofia de úteros.
- 5.-Noristerat con cinco dosis produce acumulación de grasa y vascularización en úteros.

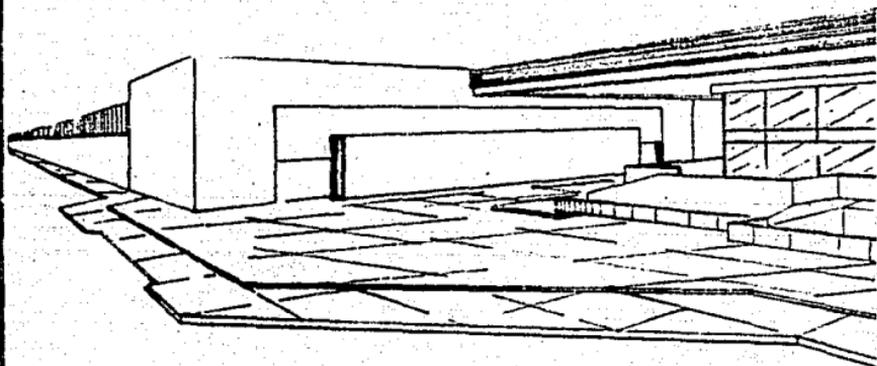
- 6.-En ovarios el Parlutal cinco dosis produce atrofia
- 7.-Noristerat en ovarios no produce daños a las dosis administradas.
- 8.-Parlutal presenta mayor alteración en el ciclo estral que el Noristerat ya que la fase estrogénica se mantiene durante más tiempo.
- 9.-El peso corporal de las ratas no es afectado por los dos anticonceptivos administrados, en ambas dosis.

UNAM

FFSC

QEB

ANEXO I



IX. ANEXO 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 (17).

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 (Noristerat y Perlutal) en diferentes números de dosis, además de tener grupos control, los cuales presentaron diferencias significativas (ver cuadro No. 6) y tomando la metodología de Rangel Trujano Lidia (17).

Si $H_0 = \mu_{P_1} = \mu_{P_2} = \mu_{N_1} = \mu_{N_2} = \mu_{C_1} = \mu_{C_2}$ se acepta

Si $H_1 \neq H_0$

se rechaza con $\alpha = 5\%$

No. de Animal	P_1	P_2	N_1	N_2	C_1	C_2	$i = 1$ $j = 1$
1	0.4	0.6	0.3	0.5	0.4	0.4	r
2	0.7	4.2	0.6	0.6	0.8	0.9	
3	0.6	1.3	0.6	0.6	0.7	0.6	
4	1.3	4.2	0.7	0.7	0.9	1.0	
5	2.4	8.4	0.7	0.9	1.2	1.1	
X_i	5.4	18.7	2.9	3.3	4.0	4.0	= 38.3 = G
\bar{X}_i	1.08	3.74	0.58	0.66	0.8	0.8	= 1.27 = \bar{X}

$$X_i = \sum_{j=1}^7 X_j \quad 5.4 \quad 18.7 \quad 2.9 \quad 3.3 \quad 4.0 \quad 4.0$$

$$\bar{X}_i = \sum_{j=1}^7 \frac{X_j}{r} \quad 1.08 \quad 3.74 \quad 0.58 \quad 0.66 \quad 0.8 \quad 0.8$$

$$G = \sum_{C=1}^6 X_i \quad 5.4 + 18.7 + 2.9 + 3.3 + 4.0 + 4.0 = 38.3$$

$$\bar{X} = \frac{\sum_{C=1}^6 X_i}{6} = \frac{1.08 + 3.74 + 0.58 + 0.66 + 0.8 + 0.8}{6} = 1.27$$

6

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 tomadas en conjunto (SC_t).

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

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

$$Fc = \frac{(38.3)^2}{5(6)} = 48.896$$

$$SC_t = (0.4)^2 + (0.6)^2 + (0.3)^2 + \dots + (1.1)^2$$

$$= 127.49 - 48.896 = 78.593$$

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

$$SC_{\text{trat}} = \frac{\sum_{i=1}^k X_i^2}{n} - \bar{X}^2$$

$$SC_{\text{trat}} = 5 \frac{(5.4)^2}{(5)^2} + \frac{(18.7)^2}{(5)^2} + \frac{(2.9)^2}{(5)^2} + \frac{(3.3)^2}{(5)^2} + \frac{(4.0)^2}{(5)^2} +$$

$$\frac{(4.0)^2}{(5)^2} + \frac{(38.3)^2}{(5)^2 (5)}$$

$$SC_{\text{trat}} = \frac{(5.4)^2 + (18.7)^2 + (2.9)^2 + (3.3)^2 + (4.0)^2 + (4.0)^2}{5} - 48.896 = 37.133 \text{ con } 5-1 \text{ g.l con } 5 \text{ grados de libertad}$$

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 P_1 :

$$(0.4)^2 + (0.7)^2 + \dots + (2.4)^2 - \frac{(5.4)^2}{5}$$

Para P_2 :

$$(0.6)^2 + (4.2)^2 + \dots + (8.4)^2 - \frac{(18.7)^2}{5}$$

Para N_1 :

$$(0.3)^2 + (0.6)^2 + \dots + (0.7)^2 - \frac{(2.9)^2}{5}$$

Para N_2 :

$$(0.5)^2 + (0.6)^2 + \dots + (0.9)^2 - \frac{(3.3)^2}{5}$$

Para C_1 :

$$(0.4)^2 + (0.8)^2 + \dots + (1.2)^2 - \frac{(4.0)^2}{5}$$

Para C_2 :

$$(0.4)^2 + (0.9)^2 + \dots + (1.1)^2 - \frac{(4.0)^2}{5}$$

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

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

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

con $t(r-1)$ grados de libertad

$$SC_{error} = 78.593 - 37.133 = 41.46$$

con 24 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.

$$CM_{trat} = 37.133/5 = 7.426$$

$$CM_{\text{error}} = 41.46/24 = 1.727$$

Ahora ya puede construirse la tabla de análisis de varianza:

PUNTE DE VARIACION	g.l	SC	CM	"F"
Tratamientos	5	37.133	7.426	4.299
Error	24	41.46	1.727	
Total	29	78.593		

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:

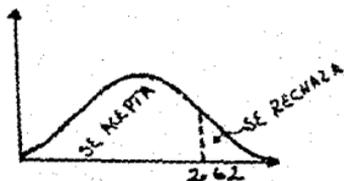
$$F = \frac{\text{Cuadrado medio de tratamientos}}{\text{Cuadrado Medio del Error}} = \frac{7.426}{1.727} = 4.299$$

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 - A_{10} , A_{11} de 2), 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" calculada cae en el área 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.

$$\text{Duncan} = \text{"rp"} \quad t_{\alpha, 1}$$

$$R_p = r_p \sqrt{\frac{CM_{\text{error}}}{r}}$$

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" evalúa una gama de medias de tratamientos y no solamente dos como en la prueba DMS.

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

donde:

$$S\bar{X} = q \sqrt{\frac{CE_{\text{error}}}{r}}$$

Por lo tanto el ejemplo presentado en el Análisis de Varianza donde se presentó diferencia significativa la prueba -

de Duncan quedó de la siguiente manera:

n con $\alpha = 5\%$ $t = 6$ trata. g.l error = 24

En la tabla A de (2) se encuentran los rangos estudentizados significativos mínimos "rp" igual a

$$R_p = 3.25 \sqrt{\frac{1.727}{6}} = 1.747$$

Todo número de la diferencia entre medias que exceda este valor presenta diferencia significativa.

Mientras que en la prueba de Tukey queda de la siguiente manera:

n con $\alpha = 5\%$ $t = 6$ trata. g.l error = 24

En la tabla A₂ de (2) se encuentran los percentiles de la distribución "q", tomando los 24 g.l del error se tiene

$$s.e. q = 4.17$$

$$SE = 4.17$$

$$\sqrt{\frac{1.727}{6}} = 2.45$$

Todo número de la inferencia que exceda este valor 2.45 presenta inferencia significativa.

Por lo tanto si se consulta el cuadro No. 6 se presentan los resultados que se encuentran en el siguiente cuadro:

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

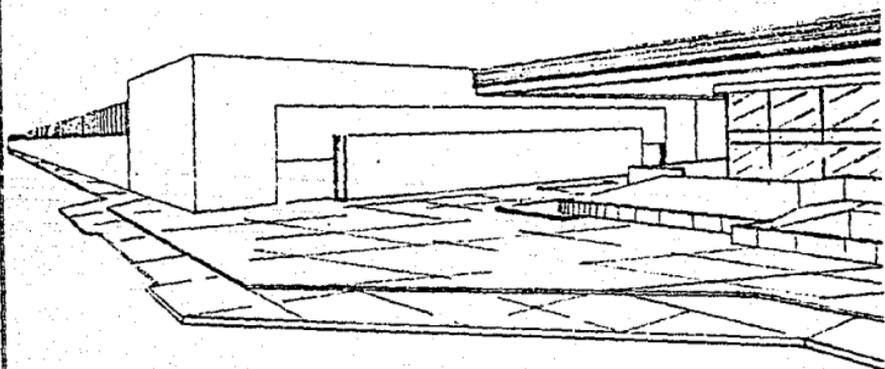
DIFERENCIA ENTRE MEDIAS		SIGNIFICANCIA	
		DISPER	TURKEY
$P_1 - G_1$	$1.08 - 1.1 = -0.02$	ns	ns
$P_1 - H_1$	$1.08 - 0.66 = 0.42$	ns	ns
$P_1 - H_2$	$1.08 - 0.58 = 0.50$	ns	ns
$P_1 - P_2$	$1.08 - 1.74 = -0.66$	++	-
$P_2 - G_1$	$1.74 - 0.8 = 0.94$	++	++
$P_2 - H_1$	$1.74 - 0.66 = 1.08$	++	++
$P_2 - H_2$	$1.74 - 0.58 = 1.16$	++	++
$H_1 - G_1$	$0.58 - 0.8 = -0.22$	ns	ns
$H_1 - H_2$	$0.58 - 0.66 = -0.08$	ns	ns
$H_2 - G_1$	$0.66 - 0.8 = -0.14$	ns	ns

Esto nos indica que es P_1 , con respecto a los otros tratamientos el que presentó las diferencias significativas y el tamente significativas (comparado con los valores obtenidos - para Duncan y Turkey(DMSR))

U N A M

FESC

QIB



X. ANEXO No. 2

METODO DE TINCION 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 para fina.

El corte ideal es de 4 a 6 micras.

Después se pasa al baño de flotación de tejidos conteniendo agua destilada y gretina a una temperatura de 40°C a 50°C 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 tinción por medio de una canastilla

METODO DE TINCION (HEMATOXILINA-EOSINA).

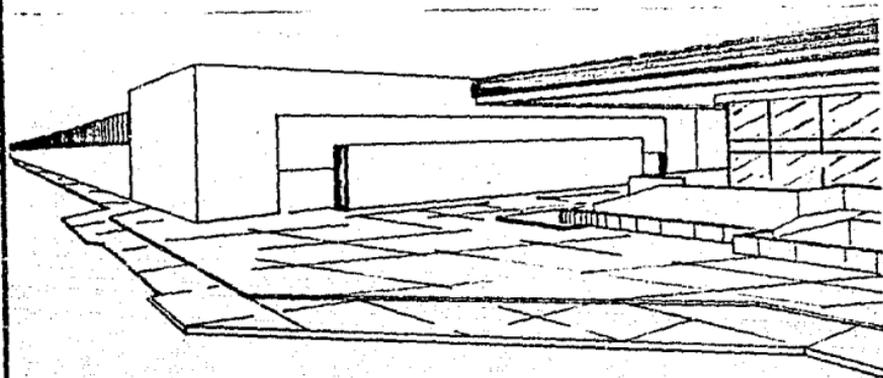
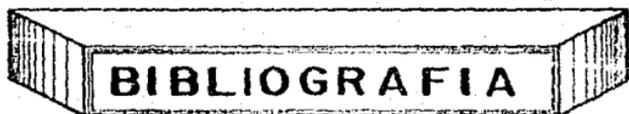
- 1.-Xilol 5 minutos
- 2.-Xilol 5 minutos
- 3.-Alcohol absoluto 5 minutos
- 4.-Alcohol de 96° 5 minutos
- 5.-Alcohol de 90° 5 minutos
- 6.-Agua destilada 5 minutos
- 7.-Hematoxilina (Harris) 5-10 minutos
- 8.-Lavado en agua

- 9.- Pase rápido en alcohol ácido
- 10.- Agua donde toma color intenso
- 11.- Eosina de 3 a 5 minutos
- 12.- Alcohol de 69^o 5 minutos
- 13.- Alcohol de 96^o 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.

U N A M

EEFC

QFB



XI. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Barastegui Almagro, C. : Esquemas y Prácticas de Farmacología. Primera Edición. Enaxa. España 1977. pags. 243-244
- 2.- Bauer E. L. Manual de Estadística para Químicos. Versión Española de J. López Ruiz. Primera Edición Española. Alambra. España, 1974. pags. 174-177.
- 3.- Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana: Anticonceptivos Inyectables: Estado Actual. Vol 100(1) pags. 100-110 Enero, 1986.
- 4.- Garza Flores Josue, Rodríguez Victoria, Palacios Gregorio Eficacia de Anticonceptivos Inyectables en Mujeres Mexicanas. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, 98(2) pags. 181-185, 1985.
- 5.- Kader M.M. Abdel, Zaky A. H. : Effect of Some Long-Acting Steroid Contraceptive on Some Enzymes in Goats and Rabbits Egypt J. Vet. Sci. Vol 16(ly 2) pags. 151-158, 1981.
- 6.- Kader M.M. Abdel, Zeinab H. M., El-Kirdassy; Effect of --

- Long-Acting Contraceptive Drugs on Serum Tryptophan of —
Rats. J. Drug Res. Expt. Vol 13(1 y 2) pag. 33-35, 1981.
- 7.- Kamran, S. Koghissi: Estado Actual de los Anticonceptivos Esteroides. Mundo Médico. Vol VI(68) pag. 51-56, Agosto - 1979.
- 8.- Kurihara Norio, Takadoro Sakuro, Ogawa Haruyoshi: Studies on Hormonal Actions of Dihydroxyprogesterone Acetophenide Estradiol Emmanthats and Their Mixures. Japan J. Pharmacol Vol 22 pag. 43-56, 1972.
- 9.- Liskin Laurie, Sc.M. and Ann H. Rutledge, M.S.: Disipar - rumores negativos sobre la fecundidad, después del uso de anticonceptivos. Population Reports. J(28), Octubre 1985.
- 10.- Liskin Laurie, Sc.M. y Blackburn, M.S.: La anticoncepción hormonal: Nuevos Métodos de Acción Prolongada. Population Reports. K(3) pag. 18-26, Febrero 1988.
- 11.- Liskin Laurie, S., and Quillin Wayne, P. : Las progestinas de acción prolongada: perspectiva sobre métodos prometedores. Population Reports. K(2) pag. 9-24, Mayo 1984.

- 12.-Litter, Manuel: Farmacología Experimental y Clínica. Quinta edición. El Ateneo. Argentina, 1979. págs. 1240-1242.
- 13.-Memorandum de una Reunión de la OMS.: Algunos hechos en torno a los anticonceptivos inyectables. Bol. Of Sanit. Panam. Vol 2(94) págs. 176-191. 1983.
- 14.-Organización Mundial de la Salud (WHO): Estudio clínico-comparativo multinacional de anticonceptivos inyectables de larga duración: Enantato de Noretisterona, administrado en dos regimenes de dosificación, y acetato de medroxi progesterona de depósito. Informe Final. Contraception. Vol 28: págs 1-20, Julio 1983.
- 15.-Plesner Rolf: Contraception by an Injectable Long-Acting Oestrogen-Progestogen Agent. II. Acta Endocrinologica. Vol 65: págs. 683-697, 1970.
- 16.-Pramuan Virutamasen, Yuvacarn Nitichai, Pailin Tangkeow, Wachara Kankeerati, Damrong Rienprayura and Banport Boonsiri: A Clinical And Metabolic Study Of Norethisterone - Oenanthate in Thai Women. Contraception. Vol 22(4): págs. 397-406, October 1980.

- 17.-Rangel Trujano Lidia: Tesis Profesional Estudio Comparati-
vo de los Efectos Adversos Producidos en Ratas Wistar --
(Blancas) por dos compuestos Contraceptivos Inyectables --
de uso comercial en México. (Anexo No. 1). pag. 39-47, --
PES-Guautitlán. México 1988.
- 18.-Rinehart Ward y Winter Jane: Progestágenos Inyectables en
Controversia en Círculos Oficiales pero Aumenta Su Uso.
Informes Médicos. X(1): pags. 3-10, Marzo 1975.
- 19.-Rubio Lotvin Boris, Ruiz Moreno José Antonio: Experiencia
con Ciclo-Provera Anticonceptivo Mensual Parenteral. Pren-
sa Médica Mexicana. (1-2): pags. 48-50, Enero-Febrero 1974
- 20.-Ruiz Velasco Victor y Alisedo Aparicio Luis E.: Efectos -
Colaterales De los Anticonceptivos de Depósito. (1-2). --
Prensa Med. Mex. pags. 25-28, Enero-Febrero 1972.
- 21.-Sheffield W. H.; Soule S. D., Herzog G.M : Cyclic Endome-
trial Changes in Response to Monthly Injections of an Es-
trogen-Progestogen Contraceptive Drug. Am. J. Obst. & Gy-
nec. pags. 828-834, March 1969.
- 22.-Taymor M.L., Planck S. and Yabis C.: Ovulation Inhibition

with a Long-Acting Parenteral Progestogen-Estrogen Combination. Fertility and Sterility, Vol 15(6): pags. 653-660 1962.

- 23.--Velasco Vitelio, Correu Azcona S.: Anticoncepción inyectable con Progestágenos de depósito. Ginecología y Obstetricia de México, Vol 51(315) : pags. 191-195, Julio 1983.
- 24.--Wallach Edward E., M.D. and García Celso Ramon: Contraception with an intramuscular Estrogen-Progestogen Preparation Administered Monthly. Contraception, Vol(1) 3: pags. 185-205, March 1970.
- 25.--Walpole R.E.: Probabilidad y Estadística para Ingenieros Primera Edición. Interamericana, México 1984. pags. 540.
- 26.--Zañatu Juan y Navarro Carlos: Inhibición de la Fertilidad por un Progestágeno Inyectable que Actua por tres meses. Departamento de Fertilidad, Clínica Obstétrica Universitaria, Santiago de Chile, 1968.